

Aus dem Institut für Toxikologie und Embryopharmakologie  
der Freien Universität Berlin

Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. Diether Neubert

UNTERSUCHUNGEN ZUR EMBRYOTOXISCHEN WIRKUNG  
EINER KOMBINATION VON  
HYDROXYHARNSTOFF MIT EINEM  
ÖSTROGEN/GESTAGEN-MISCHPRÄPARAT

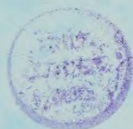
INAUGURAL-DISSERTATION

zur

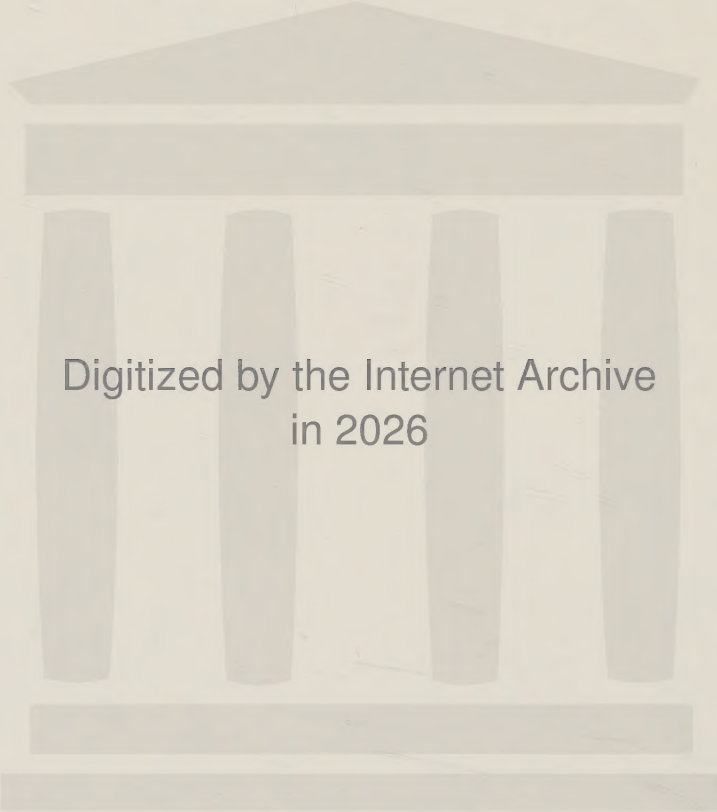
Erlangung der medizinischen Doktorwürde  
an den Medizinischen Fachbereichen  
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
Mechthild Wenk  
aus Hannover

1983







Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41546623\\_0036](https://archive.org/details/IA41546623_0036)

Aus dem Institut für Toxikologie und Embryopharmakologie  
der Freien Universität Berlin  
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. Diether Neubert

Untersuchungen zur embryotoxischen Wirkung  
einer Kombination von  
Hydroxyharnstoff mit einem Östrogen/Gestagen-Mischpräparat

Inaugural-Dissertation  
zur  
Erlangung der medizinischen Doktorwürde  
an den Medizinischen Fachbereichen  
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
Mechthild Wenk  
aus Hannover  
1983

Referent: Professor Dr. Diether Neubert

Korreferent: Privatdozent Dr. Rolf Bass

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche  
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 13.10.1983

## INHALTSVERZEICHNIS

|        |                                                                       |    |
|--------|-----------------------------------------------------------------------|----|
| 1.     | Einleitung .....                                                      | 1  |
| 1.2.   | Zielsetzung der Arbeit .....                                          | 2  |
| 2.     | Kurze Charakterisierung der verwendeten Pharmaka .....                | 4  |
| 2.1.   | Hydroxyharnstoff .....                                                | 4  |
| 2.2.   | Östrogen/Gestagen-Kombinationspräparat .....                          | 5  |
| 2.3.   | Allgemeine Bemerkung zum Problem der<br>Medikamentenkombination ..... | 6  |
| 3.     | Methodik und Versuchsdurchführung .....                               | 7  |
| 3.1.   | Tierstamm, Haltung und Paarung .....                                  | 7  |
| 3.2.   | Wahl des Applikationszeitpunktes .....                                | 8  |
| 3.3.   | Behandlung mit den verwendeten Pharmaka .....                         | 8  |
| 3.3.1. | Behandlung mit Hydroxyharnstoff .....                                 | 8  |
| 3.3.2. | Behandlung mit Cumorit® .....                                         | 9  |
| 3.3.3. | Behandlung mit Hydroxyharnstoff und Cumorit®<br>in Kombination .....  | 9  |
| 3.3.4. | Behandlung der Kontrolltiere .....                                    | 9  |
| 3.4.   | Methoden zur Auswertung der Versuchsergebnisse .....                  | 12 |
| 3.4.1. | Section .....                                                         | 12 |
| 3.4.2. | Präparierung und Aufhellung der Feten .....                           | 12 |
| 3.4.3. | Befundung .....                                                       | 12 |
| 4.     | Ergebnisse und Diskussion .....                                       | 13 |
| 4.1.   | Pränatale Mortalität .....                                            | 13 |
| 4.1.1. | vollständige Resorptionen .....                                       | 17 |
| 4.1.2. | Anzahl der Resorptionen .....                                         | 17 |

|        |                                                                                                   |    |
|--------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.2.   | Durchschnittsgewicht der Feten am Tag 21 .....                                                    | 18 |
| 4.3.   | Analyse der Veränderungen in der Entwicklung und<br>Verknöcherung des Skelettsystems .....        | 22 |
| 4.3.1. | Definitionen .....                                                                                | 22 |
| 4.3.2. | Retardierungen .....                                                                              | 35 |
| 4.3.3. | Variationen .....                                                                                 | 43 |
| 4.3.4. | Geringgradige Mißbildungen (Malformationen minor) .....                                           | 50 |
| 4.3.5. | Schwere Mißbildungen (Malformationen major) .....                                                 | 59 |
| 4.4.   | Zusammenfassung der Ergebnisse der Beurteilung<br>des Skelettsystems in einer Gesamttabelle ..... | 70 |
| 5.     | Abschließende Diskussion der Ergebnisse .....                                                     | 75 |
| 6.     | Zusammenfassung .....                                                                             | 79 |
| 7.     | Literaturverzeichnis .....                                                                        | 80 |
| 8.     | Anhang mit zusätzlichen Tabellen und Abbildungen .....                                            | 83 |

## 1. Einleitung

Bis vor einigen Jahren wurden aus diagnostischen Gründen oder zur Behandlung eines Abortus imminens weibliche Sexualhormone noch häufig während der Schwangerschaft appliziert.

In mehreren kasuistischen bzw. epidemiologischen Arbeiten wurde der Verdacht ausgesprochen, daß Östrogene, Gestagene oder eine Kombination derartiger Substanzen nach Einnahme während der Frühschwangerschaft für Mißbildungen beim Neugeborenen verantwortlich sein könnten (1 - 10). Die strukturellen Anomalien, die mit der Anwendung von weiblichen Sexualhormonen in der Frühschwangerschaft in Verbindung gebracht wurden, sind unterschiedlichster Art und betreffen verschiedene Organsysteme, u.a. werden in mehreren Studien auch Skelettmißbildungen erwähnt: "limb-reduction defects", Hüftdysplasien, Wirbelmißbildungen, Gaumenspalten. Eine Zuordnung zu einer bestimmten anatomischen Mißbildung war bei den hier angesprochenen Wirkstoffen nicht möglich. Die Anzahl der untersuchten Mutter/Kind-Paare war zudem in praktisch allen Arbeiten zu klein, um überzeugende Schlußfolgerungen zu ziehen, und "confounding factors" konnten meist nicht in ausreichender Weise ausgeschlossen werden.

In anderen epidemiologischen Studien wurde ein Zusammenhang zwischen der Gabe von Östrogenen, Gestagenen oder deren Kombination in der Frühschwangerschaft und einem Anstieg der Mißbildungsrate beim Kind nicht gefunden (11 - 14).

Auch in tierexperimentellen Arbeiten mit verschiedenen Agentien mit oestrogen- oder progestagener Aktivität wurden z.T. embryotoxische und teratogene Effekte geschildert. Allerdings liegen auch hier sehr unterschiedliche Ergebnisse vor (15 - 19) und die meisten dieser Publikationen entsprechen nicht dem heute zu fordernden wissenschaftlichen Standard, z.B. im Hinblick auf Versuchsplanung und -durchführung, Tierzahl, Dokumentation der Versuchsergebnisse. Die Frage ist auch, inwieweit man die verschiedenen synthetischen Präparationen untereinander, bzw. diese mit den genuinen Hormonen vergleichen kann.

## 1.2. Zielsetzung der Arbeit

-----

Wir haben an unserem Institut einige Versuchsreihen durchgeführt, bei denen schwangeren Ratten am Tag 11 der Schwangerschaft, also während der Organogenese, das Kombinationspräparat Östradiolbenzoat/Progesteron gegeben wurde, wie es in dieser Kombination auch als Duogynon Simplex<sup>®</sup> bzw. Cumorit<sup>®</sup> beim Menschen angewendet wurde (TIEMANN, 20). Es wurden dosisabhängig eine Erhöhung der Resorptionsrate, eine Gewichtsverminderung und das Auftreten von Retardierungsmerkmalen an Schädel, Wirbelsäule und Extremitäten der Feten festgestellt. Bei hohen Dosierungen, die für eine große Anzahl der Embryonen letal waren, traten gehäuft folgende Abnormitäten auf: poröse Knochenstrukturen, Verbiegungen und Verkürzungen an den Extremitätenknochen, wellige Rippen, verwachsene Ossa Zygomatica und asymmetrisch angelegte vertebrale Ossifikationszentren. Die Tabelle (Tab. 16), die sich im Anhang befindet, gibt die Häufigkeit des Auftretens der verschiedenen Klassen von Skelettanomalien bei den einzelnen Dosierungen an.

In anamnestischen Studien an Eltern mißgebildeter Kinder wird grundsätzlich deutlich, daß die betreffenden Mütter in der Frühschwangerschaft oftmals mehreren Risikofaktoren ausgesetzt waren (z.B. Nikotin, Alkohol, Strahlen, chem. Substanzen in Nahrung und Umwelt, Medikamenteneinnahmen, Infektionskrankheiten), so daß die Entscheidung, ob eines der Agentien - oder ob eine Kombination verschiedener Agentien - die Ursache der aufgetretenen Anomalie bildet, Schwierigkeiten bereitet, es sei denn, es handelt sich um sehr spezifische Effekte wie z.B. bei Thalidomid oder Diäthylstilböstrol.

Als Beispiel hierfür seien genannt die Ergebnisse der Retrospektivstudie von GAL (3). Von den insgesamt 200 befragten Müttern hatten 100 = 50% verschiedene Pharmaka eingenommen. Auch in der Studie von NELSON et al. aus Schottland, (21) nahmen von 1400 Schwangeren 97% auf Rezept und 65% aus eigener Initiative Arzneimittel ein (Eisen und Vitamine einbezogen).

Von Interesse ist es daher, ob die Anwendung von weiblichen Sexualhormonen in der Frühschwangerschaft die Wirkung eines anderen teratogenen Agens - in einer Dosis, die alleine gerade noch nicht (unterschwellige Dosis) oder nur in einem geringen Ausmaße teratogene Effekte zeigt - ver-

stärken kann, bzw. ob ein unterschwelliger teratogener Effekt der weiblichen Sexualhormone durch die zusätzliche Anwendung eines bekannten Teratogens verstärkt wird.

Als Beispiel hierfür untersuchten wir die Wirkung einer Kombination von Östrogen/Gestagen mit dem bekannten Teratogen Hydroxyharnstoff auf die vorgeburtliche Entwicklung der Ratte. Hydroxyharnstoff ist ein cytotoxisches (Hemmung des DNA-Biosynthese) Agens mit vielfach beschriebener teratogener Wirkung, die insbesondere auch am Skelett der Ratte nachgewiesen wurde. SCOTT et al. (22) beobachteten bei Dosierungen zwischen 250 mg/kg und 1000 mg/kg am Tag 11 der Schwangerschaft bei den Feten u.a. folgende Skelettmißbildungen: kraniale Dysplasien, Micrognathien, Gaumenspalten, Ektrodaktylien, kurze, geknickte Schwänze, verwachsene und wellige Rippen. CHAUBE et al. (23) stellten nach Dosierungen zwischen 375 mg/kg und 1000 mg/kg bei einmaliger Gabe im Zeitraum Tag 9 bis Tag 12 der Schwangerschaft bei den Feten ähnliche Veränderungen fest: mangelhaft verknöcherte Schädeldecken, Exencephalien, Encephalocelen, Gaumen- und Lippenspalten, Mikrognathien, Fehlen und Verbiegung von Extremitätenknochen, kurze, geknickte Schwänze, Mißbildungen an Wirbelsäule, Sternum und Rippen. An unserem Institut führte Beate TIEMANN (20) parallel zu den in dieser Arbeit dargestellten Kombinationsversuchen eine teratologische Untersuchung an Ratten durch. Bei Wistar-Ratten, denen am Tag 11 der Schwangerschaft Hydroxyharnstoff in einer Dosierung zwischen 200 mg/kg und 550 mg/kg i.p. appliziert worden war, traten ab der Dosierung 300 mg/kg Skelettanomalien auf, deren Häufigkeit sich dosisabhängig steigerte. Eine Tabelle im Anhang (Tab. 17) gibt die Häufigkeit des Auftretens der verschiedenen Klassen von Skelettanomalien in den einzelnen Dosierungen an.

Eine Arbeit mit ähnlichem Ansatz wurde 1979 von HARKERT und von KREYBIG veröffentlicht (24). In dieser Arbeit kommen die Autoren zu dem Schluß, daß 340 mg/kg Hydroxyharnstoff und 0,5 mg/kg Östrogen/Gestagen appliziert am Tag 11 der Schwangerschaft bei CD-Ratten zur "Potenzierung" der teratogenen Wirkung der applizierten Hydroxyharnstoffdosis führt. Die Tabelle 18 im Anhang zeigt - zum Vergleich mit unseren Ergebnissen - die Ergebnisse dieser Arbeit von HARKERT und von KREYBIG. Von diesen Autoren sind allerdings nur 38 lebende Feten nach der Gabe der Kombination 340 mg Hydroxyharnstoff/kg + 0,5 mg Cumorit<sup>®</sup>/kg ausgewertet worden.

Unser Interesse in der vorliegenden Arbeit war es, an einem ausreichenden Kollektiv und mit einem größeren Dosierungsspektrum diese Ergebnisse zu überprüfen und die entstehenden Anomalien am Skelett genauer zu analysieren.

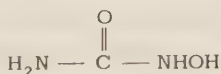
Folgende embryotoxische Wirkungen wurden in dieser Arbeit ausgewertet:

1. Retardierungen (Gewicht der Feten am Tag 21)
2. Embryomortalität (Zahl der Resorptionen)
3. Abweichungen in der Entwicklung und Verknöcherung des Skelettsystems. Dabei unterscheiden wir Retardierungsmerkmale, Variationen, leichte Mißbildungen (minor malformations) und schwere Mißbildungen (major malformations).

Diese Arbeit ist ein Teil einer gemeinsamen Untersuchungsreihe, die zusammen mit Beate TIEMANN (20) durchgeführt wurde. Die Werte für die Kontrollen und die Daten nach Gabe der Einzeldosen von Hydroxyharnstoff und Östrogen/Gestagen sind gleichzeitig auch Bestandteil der Arbeit von Beate TIEMANN.

## 2. Kurze Charakterisierung der verwendeten Pharmaka

### 2.1 Hydroxyharnstoff



Hydroxyharnstoff (im Englischen: hydroxyurea) wurde 1869 von DRESSLER und STEIN synthetisiert. Er gehört in die Klasse der Cytostatika. Therapeutische Anwendung findet Hydroxyharnstoff bei myeloischer Leukämie und verschiedenen anderen neoplastischen Erkrankungen, ebenso bei Psoriasis.

Seine cytotoxische Aktion kommt durch eine Hemmung der DNA-Synthese zustande, indem er die Reduktion von Ribonucleosiddiphosphat zu Desoxyribonucleosiddiphosphat verhindert. Für diesen Reaktionsschritt ist das Enzym Ribonucleosiddiphosphat-reductase verantwortlich, das von Hydroxyharnstoff gehemmt wird (25 - 29).

Auf den bekannten teratogenen Effekt wurde bereits in der Einleitung hingewiesen.

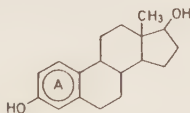
Im Folgenden wird innerhalb der Tabellen Hydroxyharnstoff mit "HU" (für Hydroxyurea) abgekürzt.

## 2.2. Östrogen/Gestagen-Kombinationspräparat

Östrogen/Gestagen-Kombinationspräparate finden Anwendung als "Antibabypillen", zur Herbeiführung einer Abbruchblutung bei bestimmten Fällen von sekundärer Amenorrhoe, und sie wurden vor einer Reihe von Jahren angewendet als hormonelle Schwangerschaftstests. Dabei finden bzw. fanden sowohl synthetische als auch natürliche vorkommende Hormone Anwendung.

Wir arbeiteten mit dem Präparat Cumorit<sup>®</sup>. Dieses Präparat ist in der Zusammensetzung identisch mit dem ehemaligen Duogynon<sup>®</sup>, das bis vor wenigen Jahren zur Schwangerschaftsdiagnose angewandt wurde und zwar dargestellt als:

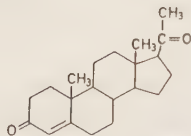
Duogynon simplex<sup>®</sup>: 1 x 1 Ampulle i.m.. Eine Ampulle (später Cumorit<sup>®</sup>) enthält Östradiolbenzoat 3,00 mg



Östradiol,  
C<sub>18</sub>-Steroid

und Progesteron

50,00 mg



Progesteron  
C<sub>21</sub>-Steroid

in öliger Lösung. Dies ist die Darreichungsform mit der wir arbeiteten.

Duogynon i.m.<sup>®</sup>: 2 x 1 Ampulle i.m., eine Ampulle enthielt Östradiolbenzoat 2,00 mg und Progesteron 20,00 mg.

Duogynon oral<sup>®</sup>: 2 x 1 Drg., ein Drg. enthielt 0,2 mg Äthinylöstradiol und 10,00 mg Norethisteronacetat.

Wir wandten in unserer Arbeit das Progesteron und Östradiolbenzoat enthaltende Präparat Cumorit<sup>®</sup> (Duogynon simplex<sup>®</sup>) an, da wir die Versuche nicht durch die Benutzung synthetischer Hormone zusätzlich komplizieren wollten, und da die bereits erwähnte Arbeit von HARKERT und von KREYBIG (24) mit den gleichen Substanzen durchgeführt wurde.

Nachdem das Präparat Duogynon oral<sup>®</sup> in den Verdacht geraten war, Mißbildungen zu erzeugen, wurde die Indikation "Zur Diagnose der Schwangerschaft" für die orale Darreichungsform gestrichen (in Deutschland 1973) und auch für die Anwendung von Duogynon<sup>®</sup> zur Injektion wurde diese Indikation nur noch mit Einschränkung geltend gemacht. 1977 wurde Duogynon<sup>®</sup> in Cumorit<sup>®</sup> umbenannt; als Indikation blieb "fehlende Monatsblutungen in best. Fällen (sekundäre Amenorrhoe)" mit der Bemerkung, daß Cumorit<sup>®</sup> nicht bei bestehender Schwangerschaft angewendet werden darf. Inzwischen ist auch dieses umbenannte Präparat nicht mehr im Handel.

Im Folgenden wird innerhalb der Tabellen und bei Dosisangaben Cumorit<sup>®</sup> mit "CU" abgekürzt.

### 2.3. Allgemeine Bemerkung zum Problem der Medikamentenkombination

Nach Anwendung von Medikamentenkombinationen sind verschiedene Resultate möglich:

#### 1. Kein zusätzlicher Effekt (oder "Null"-Effekt)

d.h. keine Veränderung der Wirkung der ersten Substanz durch den zweiten Wirkstoff. Die Häufigkeit der Veränderungen nach Applikation einer Kombination übersteigt nicht die Häufigkeit nach Applikation des Präparates mit der stärkeren - bzw. besser: mit der alleinigen - Wirkung.

## 2. Abschwächung des Effektes (Antagonismus)

Die Häufigkeit und Intensität der Veränderungen nach Applikation einer Kombination ist geringer als die Häufigkeit der Veränderungen nach Applikation des Präparates mit der stärkeren Wirkung. Dabei können verschiedene Ursachen zum Tragen kommen: Beeinflussung bei der enteralen Resorption, bei der Verteilung im Organismus, beim Metabolismus, bei der Ausscheidung, Beeinflussung am Erfolgsorgan - z.B. Blockierung der Rezeptoren durch spezifischen Antagonismus.

## 3. Vermehrung bzw. Verstärkung des Effektes durch den zweiten Wirkstoff (Synergismus)

### a) additiver Effekt

Nach Kombination entspricht die Häufigkeit der Veränderungen der Summe der Effekte nach Applikation der einzelnen Pharmaka.

### b). überadditiver Effekt ("Potenzierung")

Nach Kombination treten Veränderungen häufiger auf als es der Summe der Einzeleffekte entspräche, oder es treten neue Effekte hinzu. Eine "Potenzierung" liegt insbesondere immer dann vor, wenn die Wirkung eines Pharmakons durch Kombination mit einer unterschwelligen Dosis eines anderen oder mit einem allein unwirksamen Pharmakon verstärkt wird (30, 31).

## 3. Methodik und Versuchsdurchführung

### 3.1. Tierstamm, Haltung und Paarung -----

Benutzt wurden Wistar Ratten vom Stamm Bor:WISW (SPF TNO). Insgesamt behandelten wir 582 weibliche Tiere; davon waren 499 schwanger. In dieser Arbeit sind Daten von 339 schwangeren Tieren - 2217 lebenden Feten - ausgewertet. Das Gewicht der Muttertiere am Tag 11 der Schwangerschaft lag bei ca. 220 g. Die Tiere wurden bei einer Raumtemperatur von  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  und einer Luftfeuchtigkeit von  $55 \pm 5\%$  gehalten. Sie erhielten als Futter Altromin® Nr. 1324 und hatten Zugang zu Leitungswasser ad libitum. Die Tiere wurden bei einem Hell-Dunkelrhythmus gehalten (hell

9<sup>00</sup> - 20<sup>00</sup>). Die Paarung erfolgte im Dunkeln, zwischen 6<sup>00</sup> und 9<sup>00</sup> über drei Stunden. Die erfolgte Begattung wurde durch Vaginalabstrich (Spermien-Nachweis) festgestellt, bei positivem Abstrich lag die effektive Schwangerschaftsrate bei 86%.

Als Tag 0 bezeichnen wir die 24-Std.-Periode von 9<sup>00</sup> des Tages an, an dem ein positiver Spermien-Nachweis gelang.

### 3.2. Wahl des Applikationszeitpunktes

-----

Die verwendeten Pharmaka wurden einmalig, und zwar in Einzeldosierung oder Kombination am Tag 11 der Schwangerschaft appliziert. Dieser Zeitpunkt entspricht der Phase der späten Organogenese, d.h. der empfindlichen Phase der Gestation. Der Applikationstermin fällt dabei ebenfalls in die kritische Phase der Skelettogenese, insbesondere auch die der Extremitätenentwicklung. Die vordere Extremitätenknospe ist bereits sichtbar, die hintere beginnt sich gerade auszubilden.

Tag 11 der Gestation bei der Ratte entspricht der Entwicklung des menschlichen Embryos in der 4. Woche post conceptionem. Dies ist auch der Zeitraum, in dem häufig hormonelle Schwangerschaftstests beim Menschen angewandt wurden (24).

### 3.3. Behandlung mit den verwendeten Pharmaka

-----

#### 3.3.1. Behandlung mit Hydroxyharnstoff

Wir verwendeten Hydroxyharnstoff der Firma Serva, Chargennummer 25435. Jeweils vor Applikation wurde die Injektionslösung mit Aqua dest. frisch zubereitet. Es wurden Lösungen für folgende Dosierungen - jeweils pro Kilogramm Körpergewicht - hergestellt: 200 mg, 300 mg, 350 mg Hydroxyharnstoff. Nach Wiegen des Muttertiers wurde die Substanz intraperitoneal injiziert, und zwar 0,5 ml Lösung/100 g Tier; am Tag 11 der Schwangerschaft zwischen 9<sup>00</sup> und 10<sup>00</sup> (d.h. Tag 11 + 0 bzw. 1 Std.).

### 3.3.2. Behandlung mit Cumorit®

Wir verwendeten Cumorit® der Firma Schering AG, Berlin, Bergkamen. 1 ml enthält 50 mg Progesteron und 3 mg Östradiolbenzoat in öliger Lösung. Um Lösungen zuzubereiten für die Dosierungen 0,25 mg, 0,5 mg, bzw. 1,0 mg - jeweils pro Kilogramm Körpergewicht - , verdünnten wir Cumorit® mit dem entsprechenden Lösungsmittel in den Ampullen, d.h. Rhizinusöl/Benzylbenzoat (6 : 4), Chargennummer B 2521271179. Vermischen erfolgte durch Schütteln. Die Angaben der Dosierungen beziehen sich - der Einfachheit halber - immer auf den (größeren) Anteil von Progesteron in der Kombination. Nach Wiegen des Muttertiers injizierten wir die Lösung subcutan, und zwar 0,1 ml/100 g Tier, am Tag 11 der Schwangerschaft zwischen 9<sup>00</sup> und 10<sup>00</sup>.

### 3.3.3. Behandlung mit Hydroxyharnstoff und Cumorit® in Kombination

Beide Lösungen wurden wie unter Punkt 3.3.1. und 3.3.2. beschrieben zubereitet. Die Injektion erfolgte nach Wiegen des Muttertiers zur gleichen Zeit (Tag 11 der Schwangerschaft, 9<sup>00</sup> - 10<sup>00</sup>), zuerst 0,1 ml Cumorit®-Lösung/100 g Tier s.c. und sofort daran anschließend, 0,5 ml Hydroxyharnstofflösung/100 g Tier i.p..

Zu Beginn der Versuchsreihe benutzten wir folgende Dosierungen: 200 mg HU + 0,25 mg CU; 200 mg HU + 0,5 mg CU; 300 mg HU + 0,25 mg CU; 300 mg HU + 0,5 mg CU (jeweils pro Kilogramm Körpergewicht.). Als sich bei der ersten Zwischenauswertung bei diesen Dosierungen kein deutlicher Trend ergab, erhöhten wir die Dosierungen weiter auf 300 mg/kg HU + 0,5 mg/kg CU; 300 mg/kg HU + 1,0 mg/kg CU; 350 mg/kg HU + 0,5 mg/kg CU; 350 mg/kg HU + 1,0 mg/kg CU. Daher haben wir bei den niedrigeren (orientierenden) Dosierungen eine geringere Fetenzahl ausgewertet, und die Auswertung bezieht sich schwerpunktmäßig auf die hohen Dosen im Hauptversuch.

### 3.3.4. Behandlung der Kontrolltiere

Während des gesamten Zeitraumes der Versuchsdurchführung werteten wir Kontrolltiere aus, und zwar 1.) unbehandelte Kontrolltiere, die den gleichen Bedingungen von Haltung und Paarung unterlagen, jedoch keinerlei Lösung appliziert bekamen und 2.) "Lösungsmittelkontrollen", denen wir am

Tag 11 der Schwangerschaft zwischen 9<sup>00</sup> und 10<sup>00</sup> 0,1 ml/100 g Tier Rhizinusöl/Benzylbenzoat subcutan injizierten.

Beim Vergleich der "Kontrollen" und "Lösungsmittelkontrollen" fanden wir keine wesentlichen Unterschiede. Bei der Resorptionsrate ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied (s.a. Tab. 19, im Anhang); beim Mittelgewicht war der Unterschied (4,7 g bei der Lösungsmittelkontrolle gegenüber 4,8 g bei den unbehandelten Kontrollen) im t-Test statistisch zwar signifikant ( $t = 4,32$ ), da es sich jedoch nur um einen Unterschied von 2,1% handelt, ist dieser biologisch nicht als relevant anzusehen. Bei der teratologischen Auswertung (s. Tab. 20/21 im Anhang) ergab sich keine erhöhte Rate des Auftretens von Abnormitäten in den einzelnen Körperregionen bei den Lösungsmittelkontrollen gegenüber den unbehandelten Kontrollen. Eine der Veränderungen, und zwar verwachsene Ossa Zygomatica, eine geringgradige Mißbildung, trat bei den Lösungsmittelkontrollen (mit 12%) signifikant häufiger auf als bei den unbehandelten Kontrollen (mit 3%). Dagegen fanden wir asymmetrisch, trommelschlegelförmig angelegte ventrale Ossificationszentren an der Wirbelsäule, ebenfalls eine geringgradige Mißbildung, signifikant häufiger bei den unbehandelten Kontrollen (mit 2%) als bei den Lösungsmittelkontrollen (mit 1%). Wir messen diesen Unterschieden keine wesentliche Bedeutung zu. Es kann jedoch nicht völlig ausgeschlossen werden, daß das Lösungsmittel gegenüber den unbehandelten Kontrollen zu einer gewissen Erhöhung der Rate verwachsener Ossa Zygomatica führt. Bei der Auswertung im weiteren Verlauf werden die Werte für die unbehandelten Kontrollen und die Lösungsmittelkontrollen "gepoolt" aufgeführt und als "Kontrollen" bezeichnet.

Insgesamt ist zur Versuchsdurchführung zu sagen, daß wir gleiche Dosierungen zu verschiedenen Zeitpunkten applizierten um natürliche Schwankungen auszugleichen.

Tabelle 1 gibt Auskunft über die Versuchsanordnung und die Größe der Versuchsgruppen.

Tabelle 1:

## VERSUCHSANORDNUNG UND GRÖSSE DER VERSUCHSGRUPPEN

| Appliziertes<br>Pharmakon/Dosis     | Tag der<br>Applikation | Art der<br>Applikation | Anzahl der<br>behandelten Tiere | Anzahl der<br>schwangeren Tiere | Anzahl der<br>Feten |
|-------------------------------------|------------------------|------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------|
| Kontrolle                           | Ø                      | Ø                      | 80                              | 69                              | 621                 |
| Lösungsmittel-<br>kontrolle         | Tag 11                 | s.c.                   | 18                              | 18                              | 156                 |
| HU (200 mg/kg)                      | Tag 11                 | i.p.                   | 20                              | 14                              | 95                  |
| HU (300 mg/kg)                      | Tag 11                 | i.p.                   | 17                              | 16                              | 137                 |
| HU (350 mg/kg)                      | Tag 11                 | i.p.                   | 16                              | 13                              | 111                 |
| CU (0,25 mg/kg)                     | Tag 11                 | s.c.                   | 21                              | 15                              | 109                 |
| CU (0,5 mg/kg)                      | Tag 11                 | s.c.                   | 45                              | 34                              | 221                 |
| CU (1,0 mg/kg)                      | Tag 11                 | s.c.                   | 29                              | 27                              | 144                 |
| HU (200 mg/kg) +<br>CU (0,25 mg/kg) | Tag 11                 | i.p./s.c.              | 7                               | 2                               | 15                  |
| HU (200 mg/kg) +<br>CU (0,5 mg/kg)  | Tag 11                 | i.p./s.c.              | 6                               | 5                               | 34                  |
| HU (300 mg/kg) +<br>CU (0,25 mg/kg) | Tag 11                 | i.p./s.c.              | 8                               | 8                               | 69                  |
| HU (300 mg/kg) +<br>CU (0,5 mg/kg)  | Tag 11                 | i.p./s.c.              | 18                              | 18                              | 142                 |
| HU (300 mg/kg) +<br>CU (1,0 mg/kg)  | Tag 11                 | i.p./s.c.              | 36                              | 32                              | 125                 |
| HU (350 mg/kg) +<br>CU (0,5 mg/kg)  | Tag 11                 | i.p./s.c.              | 25                              | 22                              | 129                 |
| HU (350 mg/kg) +<br>CU (1,0 mg/kg)  | Tag 11                 | i.p./s.c.              | 50                              | 46                              | 109                 |

### 3.4. Methoden zur Auswertung der Versuchsergebnisse

---

#### 3.4.1. Sectio

Die Feten wurden am Tag 21 durch Sectio gewonnen. Unmittelbar nach der Sectio wurde die Zahl der Resorptionen und die Anzahl der lebenden Feten festgestellt. Die Feten wurden ohne Eihäute und Plazenta bis auf 10 mg genau gewogen. Sie wurden auf äußere Auffälligkeiten begutachtet. Bei den höheren Dosen fielen vereinzelt fehlende, kurze oder geknickte Schwänze, Fehlstellungen der Hinterpfoten und Hämatome auf.

#### 3.4.2. Präparierung und Aufhellung der Feten

Die Feten wurden mindestens eine Woche in 4%-iger Formaldehydlösung fixiert, jeweils die Feten eines Muttertiers in einem verschließbaren Glasgefäß. Anschließend wurden die Feten mit Leitungswasser gewaschen. Mittels einer Pinzette wurden nach Bauchschnitt vorsichtig die Bauch- und Thoraxorgane entfernt; ebenso das Nackenfett nach Entfernen der Nackenhaut. Nach einem Tag Wässern in Leitungswasser extrahierten wir die Feten (eine Woche) mit Äther-Alkohol (1 : 3); danach wurden die Feten wieder gewaschen und über Nacht in Leitungswasser offen stehen gelassen. Im Anschluß daran begann der eigentliche Färbevorgang mit 10%-iger Kalilauge + 0,3% wässriger Alizarinlösung. Diese Lösung wurde mehrmals gewechselt (ca. 3 x), je nach Größe der Feten dauerte es 3 - 5 Tage bis sie angefärbt waren (das verknöcherte Skelett erscheint in Lila, Weichteile und Knorpel werden glasig). Danach spülten wir die Feten, ließen sie über Nacht in Leitungswasser stehen und gaben sie dann in ein Gemisch aus einem Teil Benzylalkohol, zwei Teilen Äthanol, zwei Teilen Glycerin. Aufbewahrung erfolgte in Glycerin.

#### 3.4.4. Befundung

Die Skelette der Feten wurden mit einer Stereolupe, 4-fache Vergrößerung, befundet. Folgende Reihenfolge wurde eingehalten: Hirnschädel, Schultergürtel, obere Extremitäten, Rippen, Wirbelsäule, Schwanz, untere Extremitäten, Beckengürtel, Sternum, Hyoid, Gaumen, Gesichtsschädel.

Die Fotos wurden mit einem Tessovar, Zeiss (West Germany) und dem Film Agfapan 25 hergestellt.

#### 4. Ergebnisse und Diskussion

Als embryotoxische Effekte sind in dieser Arbeit definiert und ausgewertet:

1. Pränatale Mortalität (Anzahl der Resorptionen, bzw. toten Feten)
2. Retardierungen (Gewicht der Feten am Tag 21; "small for date" - Effekt)
3. Veränderungen in der Entwicklung und Verknöcherung des Skelettsystems, dabei unterschieden wir fünf Klassen von Anomalien:
  - a. Retardierungen
  - b. Variationen
  - c. geringgradige Mißbildungen = minor malformations
  - d. schwere Mißbildungen = major malformations
  - e. reversible Mißbildungen = transient malformations

Diese Einteilung ist bis zu einem gewissen Grade willkürlich. Wir haben unsere Beurteilung in den verschiedenen Tabellen definiert. Wir überprüften unsere Ergebnisse auf statistisch signifikante Unterschiede mit Hilfe des t-Tests für die Gewichte (32) und mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests (Vierfeldertafel) für die numerisch und prozentual festgestellten Versuchsergebnisse (33). Statistisch signifikant heißt in dieser Arbeit  $p < 0,05$ .

##### 4.1. Pränatale Mortalität -----

Die pränatale Mortalität drückt sich in der Anzahl der Resorptionen aus, denn die abgestorbene Frucht wird bei der Ratte im allgemeinen nicht ausgestoßen sondern resorbiert. Dabei unterschieden wir frühe, bis stecknadelkopfgroße Resorptionen, von mittleren und späten Resorptionen, also Resorptionen von über Stecknadelkopfgroße. Wir haben tote Feten ebenfalls in diese Kategorie einbezogen. Die Kategorie könnte darum besser als "pränatale Mortalität" bezeichnet werden. Die Anzahl der perinatal abgestorbenen Feten war jedoch klein. Die Unterscheidung in frühe und späte Resorptionen wurde gemacht, da wir davon ausgehen, daß erst die mittleren bis späten Resorptionen behandlungsbedingt sein können. Wir unter-

scheiden daher in den Tabellen "Resorptionen gesamt" - hier sind, soweit makroskopisch erkennbar, die frühen Resorptionen mit enthalten - von "Resorptionen mitte und spät" (d.h. möglicherweise behandlungsbedingt).

Bei den Kontrolltieren lag die Resorptionsrate bei 7,0%, davon waren 4,8% mittlere und späte Resorptionen. Bei steigender Hydroxyharnstoff-Dosierung (TIEMANN, 20) steigt die Resorptionsrate ab einer Dosierung von 350 mg/kg signifikant an (Schwellendosis) bis auf 65,6% ("Res. Ges.") bei einer Dosierung von 550 mg/kg HU, davon waren 64,8% mittlere und späte Resorptionen. bei steigender Cumorit<sup>®</sup>-Dosierung steigt die Resorptionsrate ab einer Dosis von 0,125 mg/kg signifikant gegenüber den Kontrollen (Schwellendosis) bis auf 75,1% ("Res. Ges.") bei einer Dosierung von 1,5 mg/kg CU (TIEMANN, 20), davon waren 74,6% mittlere und späte Resorptionen.

Die folgenden Daten über Muttertiere und Würfe geben Auskunft einmal für die Einzeldosen (Tab. 2 A) und dann für die Kombinationsdosen (Tab. 2 B) über die Anzahl der Würfe, die Würfe, die vollständig resorbiert waren (Totalresorptionen), die Anzahl der Implantationsstellen, die Anzahl der Würfe mit Resorptionen, die Resorptionen insgesamt - mit den frühen Resorptionen - die Anzahl der mittleren und späten Resorptionen, die Anzahl der lebenden Feten, dazu die Implantationsstellen pro Wurf, die Resorptionen insgesamt und die mittleren und späten Resorptionen pro Wurf, jeweils plus/minus der Standardabweichung bei der Wurfstatistik. Es sind die absoluten Zahlen vermerkt und zum Teil Prozentzahlen. Die Prozentzahl bei den vollständig resorbierten Würfen bezieht sich auf die Gesamtzahl der schwangeren Tiere in der jeweiligen Dosierungsgruppe (Zahl in der Klammer wenn vollständig resorbierte Würfe dabei waren), die Prozentzahl bei den Resorptionen auf die Anzahl der Implantationsstellen.

Die Tabellen listen bereits auch die Mittelgewichte der Feten auf, die erst im Teil 4.2. besprochen werden.

## MUTTERTIERE und WÜRFE

Tabelle 2 A  
Einzeldosen

| Pharmakon/Dosis (mg/kg):                | Z         |     | A         |      | B         |      | C         |      | D         |      | E         |      | F          |      |
|-----------------------------------------|-----------|-----|-----------|------|-----------|------|-----------|------|-----------|------|-----------|------|------------|------|
|                                         | n         | %   | n         | %    | n         | %    | n         | %    | n         | %    | n         | %    | n          | %    |
| 1. Anzahl der Würfe                     | 87        |     | 14        |      | 16        |      | 13        |      | 15        |      | 33((35))  |      | 24((27))   |      |
| 2. Würfe vollst. resorb.                | 0         | 0   | 0         | 0    | 0         | 0    | 0         | 0    | 0         | 0    | 2         | 5,7  | 3          | 11,1 |
| 3. Implantationsstellen                 | 836       |     | 129       |      | 153       |      | 128       |      | 140       |      | 327       |      | 257        |      |
| 4. Würfe mit Resorpt.                   | 34        |     | 13        |      | 9         |      | 8         |      | 13        |      | 28        |      | 23         |      |
| 5. Resorpt. ges. (ohne 2.)              | 59        | 7,0 | 34        | 26,4 | 16        | 10,5 | 17        | 13,3 | 31        | 22,1 | 106       | 32,4 | 113        | 44,0 |
| 6. Resorpt. mitte u. spät               | 40        | 4,8 | 33        | 25,6 | 12        | 7,8  | 15        | 11,7 | 25        | 17,8 | 100       | 30,6 | 103        | 40,1 |
| 7. Lebende Feten                        | 777       |     | 95        |      | 137       |      | 111       |      | 109       |      | 221       |      | 144        |      |
| 8. Mittelgewicht d. Feten               | 4,78 g    |     | 4,72 g    |      | 4,52 g    |      | 4,38 g    |      | 4,50 g    |      | 4,51 g    |      | 4,51 g     |      |
| 9. Standardabweichung                   | ±0,31 g   |     | ±0,26 g   |      | ±0,39 g   |      | ±0,40 g   |      | ±0,28 g   |      | ±0,61 g   |      | ±0,45 g    |      |
| 10. Runts (Gew. < 3,19 g)               | 1         |     | 0         |      | 2         |      | 0         |      | 1         |      | 3         |      | 2          |      |
| 11. Implantationen pro Wurf*            | 9,6(±2,0) |     | 9,2(±2,1) |      | 9,6(±1,4) |      | 9,8(±1,6) |      | 9,3(±2,3) |      | 9,9(±2,2) |      | 10,7(±2,2) |      |
| 12. Lebende Feten pro Wurf*             | 8,9(±2,4) |     | 6,8(±3,2) |      | 8,6(±2,1) |      | 8,5(±1,8) |      | 7,3(±3,1) |      | 6,7(±3,0) |      | 6,0(±3,2)  |      |
| 13. Resorpt. ges. pro Wurf*             | 0,7(±1,1) |     | 2,4(±2,1) |      | 1,0(±1,1) |      | 1,3(±1,7) |      | 2,1(±2,0) |      | 3,2(±2,7) |      | 4,7(±3,3)  |      |
| 14. Resorpt. mitte u. spät<br>pro Wurf* | 0,5(±1,0) |     | 2,3(±2,2) |      | 0,7(±1,0) |      | 1,1(±1,8) |      | 1,7(±2,2) |      | 3,0(±2,6) |      | 4,3(±3,4)  |      |

\* Mittelwert (± Standardabweichung); Zahl in der Doppel-Klammer = Anzahl der Würfe plus Würlle vollst. resorb.

(= Gesamtanzahl der schwangeren Tiere);

% -Angabe Reihe 2: in % der Anzahl der schwangeren Tiere; %-Angabe Reihe 5 u. 6: in % der Anzahl der Implantationen.

Tabelle 2 B  
Kombinationen

|                                         | MUTTERTIERE und WÜRFE |                    |                     |                    |                    |                    |                    |  |  |  |  |  |
|-----------------------------------------|-----------------------|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--|--|--|--|--|
|                                         | G                     | H                  | I                   | J                  | K                  | L                  | M                  |  |  |  |  |  |
| Pharmakon/Dosis (mg/kg):                | HU 200<br>+ CU 0,25   | HU 200<br>+ CU 0,5 | HU 300<br>+ CU 0,25 | HU 300<br>+ CU 0,5 | HU 300<br>+ CU 1,0 | HU 350<br>+ CU 0,5 | HU 350<br>+ CU 1,0 |  |  |  |  |  |
|                                         | n                     | n                  | n                   | n                  | n                  | n                  | n                  |  |  |  |  |  |
| 1. Anzahl der Würfe                     | 2                     | 4((5))             | 7((8))              | 18                 | 25((32))           | 20((22))           | 23((46))           |  |  |  |  |  |
| 2. Würfe vollst. resorb.                | 0                     | 1                  | 1                   | 0                  | 7                  | 2                  | 23                 |  |  |  |  |  |
| 3. Implantationsstellen                 | 20                    | 51                 | 76                  | 185                | 265                | 220                | 239                |  |  |  |  |  |
| 4. Würfe mit Resorpt.                   | 1                     | 2                  | 5                   | 16                 | 25                 | 19                 | 23                 |  |  |  |  |  |
| 5. Resorpt. ges. (ohne 2.)              | 5                     | 17                 | 7                   | 43                 | 140                | 91                 | 130                |  |  |  |  |  |
| 6. Resorpt. mitte u. spät               | 4                     | 15                 | 6                   | 37                 | 134                | 87                 | 124                |  |  |  |  |  |
| 7. Lebende Feten                        | 15                    | 34                 | 69                  | 142                | 125                | 129                | 109                |  |  |  |  |  |
| 8. Mittelgewicht d. Feten               | 4,56 g                | 4,49 g             | 4,08 g              | 4,19 g             | 4,07 g             | 3,86 g             | 3,83 g             |  |  |  |  |  |
| 9. Standardabweichung                   | ±0,02 g               | ±0,21 g            | ±0,32 g             | ±0,24 g            | ±0,43 g            | ±0,40 g            | ±0,32 g            |  |  |  |  |  |
| 10. Runts (Gew. < 3,19 g)               | 0                     | 1                  | 2                   | 5                  | 3                  | 8                  | 6                  |  |  |  |  |  |
| 11. Implantationen pro Wurf*            | 10,0(±1,4)            | 12,7(±2,1)         | 10,8(±0,9)          | 10,3(±2,0)         | 10,6(±1,7)         | 11,0(±1,6)         | 10,4(±1,9)         |  |  |  |  |  |
| 12. Lebende Feten pro Wurf*             | 7,5(±2,1)             | 8,5(±3,3)          | 9,8(±1,5)           | 7,9(±2,6)          | 5,0(±3,5)          | 6,4(±3,0)          | 4,7(±2,9)          |  |  |  |  |  |
| 13. Resorpt. ges. pro Wurf*             | 2,5(±3,5)             | 4,2(±5,3)          | 1,0(±1,0)           | 2,4(±1,8)          | 5,6(±3,3)          | 4,5(±2,9)          | 5,6(±2,5)          |  |  |  |  |  |
| 14. Resorpt. mitte u. spät<br>pro Wurf* | 2,0(±2,8)             | 3,7(±4,8)          | 0,8(±1,1)           | 2,1(±1,9)          | 5,4(±3,3)          | 4,3(±2,9)          | 5,4(±2,6)          |  |  |  |  |  |

\* Mittelwert (± Standardabweichung): Zahl in der Doppel-Klammer = Anzahl der Würfe plus Würfe vollst. resorb.

(= Gesamtanzahl der schwangeren Tiere);

%-Angabe Reihe 2: in % der Angabe der schwangeren Tiere; %-Angabe Reihe 5 u. 6: in % der Anzahl der Implantationen.

#### 4.1.1. Vollständige Resorptionen:

Die Anzahl der Muttertiere mit vollständigen Resorptionen nimmt bei den Kombinationen, zum Teil schon bei den niedrigen Dosen des Vorversuchs, im Vergleich zu den Einzeldosierungen zu, allerdings nicht bei der Kombination 300 mg/kg HU + 0,5 mg/kg CU (keine vollständige Resorption); hier liegt im Vergleich zu der Einzeldosierung mit 0,5 mg/kg CU (5,7% vollst. Res.) eher eine Abschwächung des Effektes vor. Die Steigerungen des Effektes bei der Kombination 300 mg/kg HU + 1,0 mg/kg CU (21,9% gegenüber 0% bei 300 mg/kg HU und 11,1% bei 1,0 mg/kg CU) und 350 mg/kg HU + 0,5 mg/kg CU (9,0% gegenüber 0% bei 350 mg/kg HU und 5,7% bei 0,5 mg/kg CU) erscheinen deutlich, jedoch handelt es sich nicht um statistisch signifikante Unterschiede ( $p > 0,05$ ). Bei der Kombination mit den höchsten Dosen, nämlich 350 mg/kg HU + 1,0 mg/kg CU - hier sind 50,0% der Würfe vollständig resorbiert gegenüber 0% bei 350 mg/kg HU und 11,1% bei 1,0 mg/kg CU - ist der Unterschied dagegen hoch signifikant ( $\chi^2 = 9,68$ ;  $p < 0,01$ ), so daß man in diesem Falle klar von einer Verstärkung der Wirkung durch die Medikamentenkombination sprechen kann.

#### 4.1.2. Anzahl der Resorptionen (ohne die Würfe, die vollständig resorbiert waren):

Ich beziehe mich hier auf die mittleren und späten Resorptionen, da diese nach der Medikamentenapplikation entstanden sind.

Bei den Kombinationen mit den niedrigen Dosen ergibt sich durch die Medikamentenkombination kein Effekt bzw. eine Tendenz zur Abschwächung des Effektes in Bezug auf diesen Parameter, die sich jedoch nicht als statistisch signifikant ergab ( $p > 0,05$ ). Bei der Dosierung 300 mg/kg HU + 0,5 mg/kg CU mit 20,0% Resorptionen liegt eine Abschwächung des Effektes gegenüber der Einzeldosis mit der stärkeren Wirkung (0,5 mg/kg CU mit 30,6% Res.) vor, die sich als statistisch signifikant herausstellte ( $\chi^2 = 6,22$ ;  $p < 0,05$ ). Es scheint also in diesem Falle ein Antagonismus vorzuliegen.

Demgegenüber steigt bei den Kombinationen mit den höheren Dosen im Vergleich zu den Einzeldosierungen die Anzahl der mittleren und späten Resorptionen deutlich an, und die Unterschiede erweisen sich als signifikant. Bei der Kombination 300 mg/kg HU + 1,0 mg/kg CU waren es 50,6% gegen-

über 7,8% bei 300 mg/kg HU ( $\chi^2 = 76,03$  ;  $p < 0,01$ ) und 40,1% bei 1,0 mg/kg CU ( $\chi^2 = 5,37$ ;  $p < 0,05$ ), es handelt sich hier also um einen in etwa additiven Effekt. Bei der Kombination 350 mg/kg HU + 0,5 mg/kg CU waren es 39,5% Resorptionen gegenüber 11,7% bei 350 mg/kg HU ( $\chi^2 = 28,9$ ;  $p < 0,01$ ) und 30,6% bei 0,5 mg CU ( $\chi^2 = 4,31$ ;  $p < 0,05$ ); der Effekt ist also ebenfalls in etwa additiv. Bei der Kombination von 350 mg/kg HU + 1,0 mg/kg CU waren es 51,9% Resorptionen gegenüber 11,7% bei 350 mg/kg HU ( $\chi^2 = 55,45$ ;  $p < 0,01$ ) und 40,1% Resorptionen bei 1,0 mg/kg CU ( $\chi^2 = 6,48$ ;  $p < 0,05$ ), der Effekt ist wieder etwa additiv. Diese Effekte werden auch aus der "Wurfstatistik" (Tab. 2 A, B, "Muttertiere und Würfe", Zeile 14) deutlich.

Insgesamt ist zu sagen, daß durch die Kombination von Hydroxyharnstoff und Cumorit<sup>®</sup> ab einer bestimmten Höhe der Dosierungen (350 mg/kg HU + 0,5 mg/kg CU bzw. 1,0 mg/kg CU und 300 mg/kg HU + 1,0 mg/kg CU) der embryoletale Effekt wie ihn beide Pharmaka, jedoch insbesondere Cumorit<sup>®</sup>, bereits bei Einzeldosierung zeigen, ansteigt, die beiden Pharmaka also synergistisch wirken. Der Effekt entspricht in allen Fällen einer additiven Wirkung. Eindeutige überadditive Effekte wurden nicht beobachtet.

Gedanken über die Ursachen einer solchen synergistischen Aktion der beiden Pharmaka in Bezug auf ihren embryoletalen Effekt bleiben Spekulationen. Zum Beispiel kann es sein, daß Cumorit<sup>®</sup> eher eine Schädigung der Plazenta bewirkt, die zum Absterben der Frucht führt, während Hydroxyharnstoff - besonders in den hohen Dosen - eher eine starke direkte Schädigungen des Keimes verursacht, die seiner Weiterentwicklung Grenzen setzt; d.h. beide Agentien hätten ein embryoletales Potential, jedoch mit verschiedenen Angriffspunkten.

#### 4.2. Durchschnittsgewicht der Feten am Tag 21

Um eventuelle Gewichtsretardierungen, sogenannte "small for date"-fetuses festzustellen, wogen wir die Feten gleich im Anschluß an die Sectio am Tag 21 ohne Eihäute und Plazenta (Feuchtgewicht). Wir errechneten Mittelgewicht und Standardabweichung für die einzelnen Dosierungsgruppen. Als "runs" bezeichnen wir stark gewichtsretardierte Feten, deren Gewicht unter 3,19 g liegt. Dies entspricht  $\frac{1}{3}$  des Mittelwertes der Kontrollen oder

dem Mittelwert von Kontrollen minus 5 Standardabweichungen. Wir ließen deren Gewichte in die Gesamtstatistik der Mittelgewichte mit eingehen, da es sich nach der Behandlung nicht um einen Randbefund handelt, sondern ihr Auftreten sich sowohl mit steigender Hydroxyharnstoff-Dosis, als auch mit steigender Cumorit<sup>®</sup>-Dosis häufte.

Bei den Einzeldosierungen von Hydroxyharnstoff und Cumorit<sup>®</sup> fiel das Mittelgewicht der Feten dosisabhängig (TIEMANN, 20). Tabelle 2 B zeigt das Mittelgewicht der Feten, die Standardabweichung und die "runs" für die Kombinationen, die Tabelle 2 A das gleiche für deren Einzeldosen und Kontrollen. Tabelle 3 A, S. 20 gibt den Vergleich dieser Mittelgewichte und die jeweilige Signifikanzberechnung.

Bereits bei der niedrigen Kombinationsdosis 200 mg/kg HU + 0,5 mg/kg CU fällt das Mittelgewicht der Feten unter das Mittelgewicht bei den beiden Einzeldosen, wobei der Unterschied gegenüber der in diesem Falle stärker gewichtsreduzierenden Einzeldosis von 0,5 mg/kg CU, jedoch im t-Test noch nicht signifikant ist ( $t = 0,36$ ;  $p > 0,05$ ). Bei allen anderen höheren Kombinationsdosen fällt das Mittelgewicht der Feten signifikant bzw. sogar hoch signifikant ( $p < 0,0027$ ) gegenüber den jeweils entsprechenden Einzeldosen (Tab. 3 A).

Bei der Beurteilung der Gewichtsentwicklung bei den Kombinationen gibt es keine einfache Regel. Die erhaltenen Ergebnisse lassen jedoch keinen Anhalt dafür erkennen, daß überadditive Effekte auftreten.

Tabelle 3 A

Vergleich der Mittelgewichte bei den Versuchen mit Kombinationsdosierungen mit den Mittelgewichten bei den jeweiligen Einzeldosierungen

| Kombinationsdosen:                    | HU 300 +<br>CU 0,25 | HU 300 +<br>CU 0,5 | HU 300 +<br>CU 1,0 | HU 350 +<br>CU 0,5 | HU 350 +<br>CU 1,0 |
|---------------------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| 1. Mittelgewicht<br>Kombinationsdosis | 4,08 g              | 4,19 g             | 4,07 g             | 3,86 g             | 3,83 g             |
| 2. Mittelgewicht<br>Einzeldosis HU    | 4,52 g              | 4,52 g             | 4,52 g             | 4,38 g             | 4,38 g             |
| 3. Mittelgewicht<br>Einzeldosis CU    | 4,50 g              | 4,51 g             | 4,51 g             | 4,51 g             | 4,51 g             |
| 4. Signifikanz-<br>berechnung         | t = 8,63            | t = 8,47           | t = 8,84           | t = 10,04          | t = 20,49          |
| 1. gegen 2. Zeile                     | p < 0,0027          | p < 0,0027         | p < 0,0027         | p < 0,0027         | p < 0,0027         |
| 5. Signifikanz-<br>berechnung         | t = 8,94            | t = 7,00           | t = 8,00           | t = 12,02          | t = 13,83          |
| 1. gegen 3. Zeile                     | p < 0,0027          | p < 0,0027         | p < 0,0027         | p < 0,0027         | p < 0,0027         |

p < 0,0027 = hoch signifikant; Umrechnung der t-Werte erfolgte nach der Tabelle von PÄTAU (32)

Bei den höheren Kombinationsdosen traten auch mehr "runs" auf, als es bei den Einzeldosen der Fall war. Dies zeigt folgende Tabelle (Tab. 3 B).

Tabelle 3 B

Anzahl der "runs"

|                |     | <u>Hydroxyharnstoff</u> |       |         |
|----------------|-----|-------------------------|-------|---------|
|                |     | 0                       | 300   | 350     |
| <u>Cumorit</u> | 0   | 0,1 %                   | 1,4 % | < 0,9 % |
|                | 0,5 | 1,3 %                   | 3,5 % | 6,2 %   |
|                | 1,0 | 1,4 %                   | 2,4 % | 5,5 %   |

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die gewichtsretardierenden Wirkungen von Cumorit<sup>®</sup> und Hydroxyharnstoff durch die Kombination beider Medikamente deutlich verstärkt werden - es handelt sich um einen additiven - vielleicht leicht überadditiven - Effekt.

#### 4.3.      Analyse der Veränderungen in der Entwicklung -----             und Verknöcherung des Skelettsystems -----

Bei der teratologischen Auswertung des Skelettsystems unterschieden wir fünf Klassen von Anomalien:

1.    Retardierungsmerkmale
2.    Variationen
3.    geringgradige Mißbildungen = minor malformations
4.    schwere Mißbildungen = major malformations
5.    reversible Mißbildungen = transient malformations

##### 4.3.1.    Definitionen:

##### 1.    Retardierungsmerkmale

Als Retardierung bezeichnen wir das Zurückbleiben eines Feten in seiner Entwicklung. Dies drückt sich einerseits in einer Minderung des Gewichts gegenüber dem Mittelgewicht der Kontrolltiere zum gleichen Entwicklungszeitpunkt aus (s. Punkt 4.2.). Andererseits sind nach Anfärbung mit Alizarinrot auch bestimmte Retardierungsmerkmale am Skelett sichtbar.

Als Retardierungsmerkmal werteten wir Skelettveränderungen, die darin bestanden, daß Knochenkerne fehlten, die jedoch normalerweise zum Zeitpunkt der Sectio gerade erst angelegt sind, die also während der weiteren Fetalentwicklung oder postnatal noch hätten erscheinen können, bzw. Veränderungen, wo Knochenkerne als angelegt erkennbar waren (knorpelig), jedoch mangelhaft verknöchert.

Folgende Veränderungen, die bei den Kombinationen bzw. deren Einzeldosen auftraten, werteten wir als Retardierungsmerkmale:

- am Schädel deutlich vergrößerte Fontanellen und mangelhafte Ossifikation der Knochenplatten des Schädeldachs (Os parietale, Os interparietale und Os supraoccipitale).

- am Sternum das Fehlen von Ossifikationszentren (normalerweise sind am Tag 21 sechs Ossifikationszentren sichtbar).
- an der Wirbelsäule symmetrisch, trommelschlegelförmig (bzw. hantelförmig) angelegte ventrale Ossifikationszentren (s. auch Lit. 34) bzw. zwei symmetrisch beidseits der Mittellinie liegende Knochenkerne statt des einen ventralen Ossifikationszentrums, wie es normalerweise am Tag 21 ausgebildet ist. Auch das Fehlen von ventralen Ossifikationszentren in der Halswirbelsäule bewerteten wir als Retardierungsmerkmal, während es sich beim Fehlen von ventralen O.Z. (in den Tabellen wird Ossifikationszentrum mit O.Z. abgekürzt) der Wirbelsäule im Bereich der Brustwirbelsäule, Lendenwirbelsäule und dem Kreuzbein (KWS) unserer Ansicht nach um eine Mißbildung handelt.
- an den Extremitäten werteten wir es als Retardierung, wenn die Metatarsalia bzw. Metacarpalia zwar als angelegt erkennbar, jedoch mangelhaft verknöchert waren, was sich in einer nur blassen bzw. punktuellen Anfärbbarkeit ausdrückt. Dagegen werteten wir es als Mißbildung, wenn weniger als 3 Metacarpalia bzw. Metatarsalia erkennbar waren, die restlichen Knochenzentren der jeweiligen Pfote sich jedoch als dem Zeitpunkt entsprechend verknöchert herausstellten. Mangelhaft verknöcherte Vorder- oder Hinterpfoten traten immer beidseits auf.

## 2. Variationen

Als Variationen bezeichneten wir sich auf die Funktion kaum negativ auswirkende Anomalien, die auch bei den Kontrollfeten häufig anzutreffen sind, d.h. in die Variationsbreite der Spezies fallen. Folgende Skelettveränderungen werteten wir als Variationen:

- am Sternum zusätzliche Ossifikationszentren und stark gekerbte oberste Ossifikationszentren
- an den Rippen das Fehlen der 13. Rippe und wellige Rippen. Ob es sich bei den welligen Rippen wirklich um eine Variation handelt (bei den Kontrollen trat diese Veränderung in 6,3% der Fälle auf, bei der Dosierung 1,5 mg/kg CU beobachteten wir sie in 59,1% der Fälle) oder doch um eine Mißbildung, konnten wir im Rahmen unserer Untersuchung nicht entscheiden. Es wäre sicher zweckmäßig, diesen Typ von

Anomalie als eigene Kategorie zu führen: reversible congenitale Mißbildungen (s. 5. Kategorie), da diese grob-strukturellen Veränderungen sich nach der Geburt relativ rasch zurückbilden (R.A. SIDDAL, Macclesfield, persönliche Mitteilung). Für die hier vorliegende Auswertung beließen wir es dabei, die Veränderung "wellige Rippen" in die Klasse der Variationen einzuordnen.

- An den Extremitäten stuften wir es als Variation ein, wenn wir stellenweise eine gegenüber dem umliegenden Gewebe poröse, weniger dichte, unregelmäßig gezeichnete, in etwa "mottenfraßartige" Knochenbälkchenstruktur antrafen. Dies trat meist an den vorderen Extremitäten: Scapula, Humerus, Radius und Ulna auf, in wenigen Fällen auch an den hinteren Extremitäten und zwar am Femur. Diese Veränderung trat einseitig oder beidseitig auf.

An dieser Stelle wird die bis zu einem gewissen Maße bestehende Willkürlichkeit unserer Einteilung deutlich. Was ist die biologische Bedeutung einer porösen Knochenstruktur in den Extremitäten? Wann beginne ich von "Mißbildungen" zu sprechen - bereits im mikroskopischen Bereich oder erst im makroskopischen Bereich? Nach einer Pharmakon-Applikation kann es sich durchaus um einen pathologischen Befund - z.B. im mikroskopischen Bereich - handeln. Wir kamen überein, diese Strukturveränderung trotzdem noch als Variationen einzustufen, wenngleich diese Veränderungen möglicherweise Voraussetzung für eine Verbiegung des Knochens sein können, die wir häufig bei denselben Tieren an eben dieser Stelle beobachteten, und die wir dann als schwerwiegende Mißbildung einstufen.

### 3. Geringgradige Mißbildungen ("minor malformations")

Als Mißbildungen betrachten wir fehlende Knochenkerne, deren Erscheinen im weiteren Verlauf der Entwicklung unwahrscheinlich ist, dies läßt sich durch Seitenvergleich und Lage und Verknöcherungszustand der angrenzenden Knochenkerne beurteilen. Als Mißbildungen wurden weiterhin gewertet: Verwachsungen, Spalten, Asymmetrien, Verbiegungen (bis auf die der Rippen) und irreguläre Stellungen. Von diesen Skelettveränderungen klassifizierten wir alle die als geringgradig, die den Gesamtbau und die Funktion nur begrenzt beeinträchtigen. In den Tabellen wird diese Rubrik mit "Malformationen minor" bezeichnet.

- Es handelt sich am Schädel um verwachsene Ossa zygomatica einseitig oder beidseitig - normalerweise besteht das Os zygomaticum zum Zeitpunkt der Sectio aus drei voneinander getrennten Fragmenten - und um zusätzliche Ossifikationszentren über dem Os nasale. Diese letztere Veränderung ging jedoch nicht in die Gesamtsumme der Feten mit geringgradigen Mißbildungen ein, da wir sie nicht für biologisch relevant erachteten, wenn sie auch nur bei behandelten Tieren, nicht bei Kontrolltieren beobachtet wurde.
- Die Mißbildungen am Sternum stuften wir ebenfalls als geringgradige Mißbildung ein: verwachsenen Ossifikationszentren, Sternum gespalten, irregulär angelegte sternale Ossifikationszentren, d.h. die Knochenkerne waren in ihrer Anordnung nicht mehr klar zu differenzieren.
- An der Wirbelsäule handelt es sich bei den geringgradigen Mißbildungen um asymmetrisch trommelschlegelförmig angelegte ventrale Ossifikationszentren und zwei getrennte, asymmetrisch beidseits der Mittellinie liegende ventrale Ossifikationszentren. Ebenso stuften wir fehlende Ossifikationszentren in BWS/LWS und KWS oder fehlende laterale Ossifikationszentren und einen gespaltenen Atlas als "Malformationen minor" ein.
- An den Extremitäten bezeichneten wir Verkürzungen der langen Röhrenknochen als geringgradige Mißbildungen: Verkürzung von Humerus, Radius und Ulna oder von Femur oder Tibia. Wir unterschieden wiederum einseitig auftretende von beidseits auftretenden Veränderungen.

#### 4. Schwere Mißbildungen ("major malformations")

Als "schwer" bezeichneten wir Mißbildungen, die die Funktion unter Umständen gravierend beeinflussen können. In den Tabellen wird diese Rubrik als "Malformationen major" bezeichnet.

- Am Schädel beobachteten wir deutliche Formveränderungen: sehr runde, auffallend kleine Hirnschädel, kurze Nasen; es traten irregulär verwachsene Schädelnähte auf, gespaltenen Unterlippen (was in den

meisten Fällen einem gespaltenen Unterkiefer gleichkommt, dieser Befund läßt sich jedoch bei der äußerlichen Beurteilung besser erheben als im angefärbten Zustand, daher bleiben wir bei der Bezeichnung gespaltene Unterlippe) und Gaumenspalten. Ebenfalls stuften wir es als schwerwiegende Mißbildung am Schädel ein, wenn das Os tympanicum einseitig oder beidseitig fehlte. Über eine solche Veränderung ist uns aus der Literatur nichts bekannt - wir nehmen an, daß diese Veränderung möglicherweise einen Hörverlust bedeutet und den Verlust des Gleichgewichtssinns, somit handelt es sich um einen schwerwiegenden Effekt, der bei Tieren eine Einschränkung der Lebenstüchtigkeit bedeuten kann.

- An der Wirbelsäule stuften wir folgende Mißbildungen als schwerwiegend ein: irregulär liegende ventrale Ossifikationszentren, bei denen nicht deutlich war, welcher vertebralen Einheit sie zuzuordnen waren; Verschmelzungen von ventralen Ossifikationszentren untereinander, Verschmelzungen von lateralen Ossifikationszentren miteinander, Verschmelzungen von lateralen und ventralen Ossifikationszentren miteinander - das sind Mißbildungen, die zu einer starken Veränderung von Form und Funktionsfähigkeit der Wirbelsäule führen - und völlig regellos angelegte Kreuzbeine (Verschmelzungen, fehlende und irreguläre Anlage von Wirbelsegmenten im Kreuzbereich. Wie immer bei der Befundung der Wirbelsäule unterschieden wir es, ob ein bis zwei oder mehr Ossifikationszentren von den Veränderungen betroffen waren. Fehlende, stark verkürzte oder geknickte Schwänze wurden ebenfalls als "Malformationen major" eingestuft.
- Folgende Veränderungen an den Extremitäten stuften wir als schwerwiegende Mißbildungen ein: an der vorderen Extremität verbogene Scapula, verbogener Humerus, Radius und Ulna, Radius fehlt, jeweils einseitig oder beidseitig auftretend, irreguläre Stellung der Vorderpfoten, immer beidseits auftretend. An der hinteren Extremität verbogener bzw. geknickter Femur, verbogene bzw. geknickte Tibia und Fibula, fehlende Tibia, das Vorhandensein von weniger als drei Metatarsalia (normalerweise sieht man am Tag 21 fünf metatarsale Ossifikationszentren) jeweils einseitig oder beidseits auftretend und eine irreguläre Stellung der Hinterpfoten, jeweils beidseits auftretend. Waren weniger als drei Phalangen vorhanden (Oligodactylie) listeten wir diese Veränderung ebenfalls unter den schweren Mißbildungen auf. Wir nahmen die Feten wegen dieser Veränderung jedoch nicht in die Ge-

samtsumme der Feten mit "Malformationen major" auf, da die Phalangen nach Anfärbung relativ schlecht abzugrenzen sind, und die Verknöcherung der Phalangen am Tag 21 noch nicht weit fortgeschritten ist und somit der Ossifikationszustand einer größeren Variationsbreite unterliegt.

## 5. Reversible Mißbildungen (transient malformations)

Wie bereits erwähnt sollte man u.U. die welligen Rippen besser in diese Kategorie einstufen. Wir haben dies in dieser Arbeit noch nicht gemacht. In den Tabellen sind die welligen Rippen jedoch getrennt aufgeführt.

Unsere Einteilung in die fünf Kategorien von Knochenveränderungen: Retardierungsmerkmale, Variationen, geringgradige und schwere Mißbildungen und reversible Mißbildungen ist wie gesagt zu einem gewissen Maße willkürlich und erhebt keinen Anspruch auf Allgemeingültigkeit. Parallelen fanden wir bei LORKE in seinem Aufsatz über "Embryotoxische Wirkungen an der Ratte" (35). Im Anhang befindet sich der Übersichtlichkeit halber eine vollständige Liste der Abnormitäten und deren Einteilung, in der auch Veränderungen erwähnt sind, die nur bei hohen Dosen Hydroxyharnstoff auftraten (TIEMANN, 20).

Um eindeutiger Aussagen über das Ausmaß der Effekte machen zu können, haben wir in der Gesamtbewertung noch folgende Kategorien dazu gebildet:

- Feten mit Malformationen gesamt = Tiere mit Malformationen minor und/oder major, um sagen zu können, ob überhaupt Mißbildungen auftraten.
- Tiere mit über drei Malformationen minor, Tiere mit über drei Malformationen major, Tiere mit über drei Malformationen minor und major, um das Ausmaß des Effektes zu verdeutlichen. Außerdem untersuchten wir das kombinierte Auftreten von verschiedenen Klassen von Anomalien bei ein- und demselben Feten, z.B. Tiere mit Retardierungen und Malformationen, was bei den hohen Hydroxyharnstoff-Dosen die Regel ist.

Ein Problem, was sich bei der Bewertung der Skelettanomalien stellt, und ungelöst bleiben muß, ist folgendes: Bei der Kombination mit hohen Cumorit<sup>®</sup>-Dosen ist die Resorptionsrate sehr hoch (300 mg/kg HU + 1 mg/kg CU: 52,8%; 350 mg/kg HU + 1 mg/kg CU: 54,4%), so daß anzunehmen ist, daß auch eine hohe Anzahl von mißgebildeten Embryonen, bzw. Feten resorbiert wurden, die nicht in die Auswertung mit eingehen.

#### Zunächst zur Orientierung:

Bevor wir die verschiedenen Klassen von Skelettanomalien für die einzelnen Kombinationen detailliert auswerten, zunächst zur Orientierung eine Tabelle zur teratologischen Gesamtbeurteilung (Tabellen 4 A, B) in der angegeben ist, wieviele Feten überhaupt in den einzelnen Gruppen Abnormitäten aufweisen (= "nicht O.B"). Es wird sodann differenziert, wieviele dieser Feten von Retardierungsmerkmalen, wieviele von Variationen, wieviele von Mißbildungen (Malform. Gesamt) betroffen sind, und diese dann wiederum aufgefächert in geringgradige Mißbildungen (Malform. minor) und schwere Mißbildungen (Malform. major). Dabei kann ein Fetus Träger mehrerer Klassen von Merkmalen sein. Die Prozentzahlen beziehen sich auf die Anzahl in der jeweiligen Dosierungsgruppe. Eine Tabelle im Anhang (Tabelle 23 A, B) gibt Auskunft darüber, in welchen Körperregionen die Feten von Abnormitäten betroffen sind - ohne Aufteilung in die verschiedenen Klassen von Anomalien.

Tabelle 4 A

Einzeldosen

TERATOLOGISCHE GESAMTBURTEILUNG  
 AUFTEILUNG IN RETARDIERUNGEN; VARIATIONEN; MALFORMATIONEN, DIE REVERSIBLE SIND;  
 MALFORMATIONEN GESAMT (= minor + major); MALFORMATIONEN MINOR; MALFORMATIONEN MAJOR.

| Pharmakon/Dosis (mg/kg):    | Z   |      | A  |      | B   |      | C   |      | D   |      | E   |      | F   |      |
|-----------------------------|-----|------|----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|
|                             | n   | %    | n  | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    |
| 1. Anzahl der Feten         | 777 |      | 95 |      | 137 |      | 111 |      | 109 |      | 221 |      | 144 |      |
| 2. O.B.                     | 534 | 68,7 | 66 | 69,5 | 40  | 29,2 | 18  | 16,2 | 57  | 52,3 | 95  | 43,0 | 47  | 32,6 |
| 3. nicht O.B.               | 243 | 31,3 | 29 | 30,5 | 97  | 70,8 | 93  | 83,8 | 52  | 47,7 | 126 | 57,0 | 97  | 67,4 |
| 4. Feten m. Retard.         | 156 | 20,1 | 19 | 20,0 | 89  | 65,0 | 80  | 72,1 | 39  | 35,8 | 100 | 45,2 | 77  | 53,5 |
| 5. Feten m. Variat.**       | 86  | 11,1 | 9  | 9,5  | 4   | 2,9  | 3   | 2,7  | 15  | 13,8 | 49  | 22,2 | 38  | 26,4 |
| 6. Feten m. Malform. gesamt | 65  | 8,4  | 6  | 6,3  | 50  | 36,5 | 70  | 63,1 | 24  | 22,0 | 59  | 26,7 | 49  | 34,0 |
| 7. Malform. Minor           | 61  | 7,8  | 5  | 5,3  | 48  | 35,0 | 68  | 61,3 | 23  | 21,1 | 55  | 24,9 | 43  | 29,9 |
| 8. Malform. Major           | 5   | 0,6  | 1  | 1,0  | 6   | 4,4  | 24  | 21,6 | 1   | 0,9  | 18  | 8,1  | 15  | 10,4 |
| 9. Malform. reversibel*     | 49  | 6,3  | 3  | 3,2  | 1   | 0,7  | 0   | 0    | 6   | 5,5  | 37  | 16,7 | 31  | 21,5 |

\* Hier nur "wellige Rippen".

\*\* einschließlich "wellige Rippen".

Tabelle 4 B

Kombinationen

TERATOLOGISCHE GESAMTBEURTEILUNG  
AUFTEILUNG IN RETARDIERUNGEN; VARIATIONEN; MALFORMATIONEN, DIE REVERSIBLE SIND;  
MALFORMATIONEN GESAMT (= minor + major); MALFORMATIONEN MINOR; MALFORMATIONEN MAJOR.

| Pharmakon/Dosis (mg/kg):    | G  |      | H  |      | I  |      | J   |      | K   |      | L   |      | M   |      |
|-----------------------------|----|------|----|------|----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|
|                             | n  | %    | n  | %    | n  | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    |
| 1. Anzahl der Feten         | 15 |      | 34 |      | 69 |      | 142 |      | 125 |      | 129 |      | 109 |      |
| 2. O.B.                     | 13 | 86,7 | 27 | 79,4 | 23 | 33,3 | 45  | 31,7 | 20  | 16,0 | 13  | 10,1 | 1   | 0,9  |
| 3. nicht O.B.               | 2  | 13,3 | 7  | 20,6 | 46 | 66,7 | 97  | 68,3 | 105 | 84,0 | 116 | 98,9 | 108 | 99,1 |
| 4. Feten m. Retard.         | 2  | 13,3 | 1  | 2,9  | 38 | 55,1 | 44  | 31,0 | 91  | 72,8 | 93  | 72,1 | 91  | 83,5 |
| 5. Feten m. Variat. **      | 0  | 0    | 6  | 17,6 | 8  | 11,6 | 32  | 22,5 | 34  | 27,2 | 7   | 5,4  | 11  | 10,1 |
| 6. Feten m. Malform. gesamt | 1  | 6,7  | 0  | 0    | 21 | 30,4 | 61  | 43,0 | 75  | 60,0 | 109 | 84,5 | 104 | 95,4 |
| 7. Malform. Minor           | 1  | 6,7  | 0  | 0    | 14 | 20,3 | 54  | 38,0 | 70  | 56,0 | 107 | 82,9 | 103 | 94,5 |
| 8. Malform. Major           | 0  | 0    | 0  | 0    | 11 | 15,9 | 17  | 12,0 | 22  | 17,6 | 36  | 27,9 | 71  | 65,1 |
| 9. Malform. reversibel*     | 0  | 0    | 2  | 5,9  | 0  | 0    | 18  | 12,7 | 12  | 9,6  | 3   | 2,3  | 4   | 3,7  |

\* Hier nur: "wellige Rippen".

\*\* einschließlich "wellige Rippen".

Zu den einzelnen Dosen ist zu sagen, daß für sämtliche Klassen von Abnormitäten die Schwellendosis für Hydroxyharnstoff bei 300 mg/kg liegt. Ab 300 mg/kg HU steigt die Häufigkeit des Auftretens von Retardierungs-, Variations- und Mißbildungsmerkmalen signifikant gegenüber den Kontrollen, wobei allerdings die Rate der Variationen nicht so stark dosisabhängig steigt, wie die der anderen Merkmale. Für Cumorit<sup>®</sup> liegt die Schwellendosis für die Retardierungen bei 0,25 mg/kg, für die Variationen, die sich hier dosisabhängig erhöhen, bei 0,5 mg/kg, für die Malformationen gesamt bei 0,25 mg/kg, ebenso für die Malformationen minor, die Schwellendosis für die Malformationen major liegt bei 0,5 mg/kg.

In den Tabellen sind die Spalten "G", "H" und "I" der Vollständigkeit halber die Ergebnisse der Vorversuche (d.h. die Serien mit den niedrigen Dosierungen bei den Kombinationen) mit aufgeführt. In der Auswertung jedoch werde ich auf die niedrigen Dosen (200 mg/kg HU + 0,25 mg/kg CU bzw. 0,5 mg/kg CU) nicht eingehen. Von der Tendenz her fällt zwar die Rate der Abnormitäten gegenüber den Einzeldosen und sogar gegenüber den Kontrollfeten, aufgrund der geringen Fetenzahl ist jedoch dieser Befund nicht zu wichten. Die dritte Dosierung der Vorversuche - 300 mg/kg HU + 0,25 mg/kg CU - werde ich als Vergleich zu den Dosen der Hauptversuche mit aufführen, doch auch hier sind die Befunde unter Vorbehalt zu sehen, da die Anzahl der Feten auch hier nur halb so groß ist, wie die Anzahl der Feten in den Gruppen des Hauptversuchs.

Um die Auswertung übersichtlicher zu gestalten, ist im folgenden der Vergleich der Kombinationsdosen mit den jeweiligen Einzeldosen und die statistische Auswertung mittels des Chi-Quadrat-Testes tabellarisch aufgeführt (Tab. 5).

Tabelle 5

Teratologische Gesamtbeurteilung - Vergleich der Ergebnisse  
der Versuche mit Kombinationsdosierungen mit den Ergebnissen  
bei den jeweiligen Einzeldosierungen

| Kombinations-<br>dosen:     | HU 300 +<br>CU 0,25              | HU 300 +<br>CU 0,5               | HU 300 +<br>CU 1,0               | HU 350 +<br>CU 0,5               | HU 350 +<br>CU 1,0               |
|-----------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Vergleich                   | HU                               | CU                               | HU                               | CU                               | CU                               |
| nicht O.B.                  | $\downarrow^* \emptyset$<br>0,20 | $\downarrow^* \emptyset$<br>0,10 | $\downarrow^* !$<br>5,72         | $\downarrow^* \emptyset$<br>1,49 | $\downarrow^* !$<br>14,43        |
| Feten mit<br>Retard.        | $\downarrow^* \emptyset$<br>1,50 | $\downarrow^* !$<br>30,92        | $\downarrow^* \emptyset$<br>1,52 | $\downarrow^* \emptyset$<br>0,02 | $\downarrow^* \emptyset$<br>3,50 |
| Feten mit<br>Variationen    | $\downarrow^* \emptyset$<br>0,04 | $\downarrow^* \emptyset$<br>0,00 | $\downarrow^* \emptyset$<br>0,00 | $\downarrow^* !$<br>15,77        | $\downarrow^* !$<br>9,53         |
| Feten mit<br>Malform. ges.  | $\downarrow^* \emptyset$<br>0,50 | $\downarrow^* \emptyset$<br>0,96 | $\downarrow^* !$<br>13,55        | $\downarrow^* !$<br>13,35        | $\downarrow^* !$<br>32,87        |
| Feten mit<br>Malform. minor | $\downarrow^* !$<br>4,07         | $\downarrow^* \emptyset$<br>0,15 | $\downarrow^* !$<br>10,77        | $\downarrow^* !$<br>13,13        | $\downarrow^* !$<br>33,19        |
| Feten mit<br>Malform. major | $\downarrow^* !$<br>6,64         | $\downarrow^* \emptyset$<br>0,26 | $\downarrow^* \emptyset$<br>2,34 | $\downarrow^* \emptyset$<br>0,94 | $\downarrow^* !$<br>40,69        |

Die Zahlen geben die  $\chi^2$ -Werte an;  $\chi^2 > 3,8$  = signifikant;  $\chi^2 > 6,6$  = hoch signifikant. Die Angaben beziehen sich auf die Daten in den Tabellen 4 A und 4 B.  $\downarrow$  /  $\downarrow$  = bedeutet: der entsprechende Parameter liegt bei der Kombination geringer/höher/etwa gleich wie in der Einzeldosierung. Die Einzeldosis mit dem höheren Effekt ist mit \* markiert.  $\emptyset$ : nicht signifikant; !: signifikant; !!: hoch signifikant.

Während bei der niedrigen Kombinationsdosis "I" im Vorversuch und bei der Dosierung 300 mg/kg HU + 0,5 mg/kg CU die Anzahl der Feten mit Abnormitäten (= "nicht O.B.") gegenüber der Hydroxyharnstoff-Dosis (mit dem stärkeren Effekt) eher fällt - wobei der Unterschied nicht signifikant ist, - steigt die Anzahl der Feten mit Abnormitäten in allen anderen höheren Kombinationsdosen gegenüber dem Bestandteil der Kombination mit der stärkeren Wirkung (in diesem Falle jeweils die Hydroxyharnstoff-Dosis). Es handelt sich also zumindest bei der Kombination von Hydroxyharnstoff mit 1,0 mg/kg Cumarit<sup>®</sup> um einen Synergismus in Bezug auf die Anzahl der Feten mit Abnormitäten, wobei der Effekt allerdings weniger als additiv ist, denn dann müßte erwartungsgemäß in allen Fällen die Rate der Feten mit Abnormitäten bei 100% liegen.

Im folgenden sollen die auftretenden Abnormitäten in Retardierungen, Variationen und Mißbildungen aufgeschlüsselt werden.

Bei den Retardierungsmerkmalen fällt auf, daß im Vergleich zu den stärker retardierend wirkenden Hydroxyharnstoff-Dosen die Kombination mit den niedrigen Cumarit<sup>®</sup>-Dosen 0,25 mg/kg und 0,5 mg/kg in Bezug auf die Retardierungen einen antagonistischen Effekt haben, bzw. bei der Kombination 350 mg/kg HU + 0,5 mg/kg CU keinen Effekt. Bei der Kombination von 300 bzw. 350 mg/kg HU mit 1,0 mg/kg CU hingegen wird der Effekt etwas verstärkt, der Unterschied stellt sich jedoch als nicht signifikant heraus. Der synergistische Effekt, wie er beim Auftreten von Abnormitäten beobachtet wurde, hat seine Ursache demnach nicht in einem vermehrten Auftreten von Retardierungserscheinungen.

Ähnlich verhält es sich mit den Variationsmerkmalen. Hier ergibt sich bei den Kombinationen von 300 mg/kg HU mit 0,25, 0,5 und 1,0 mg/kg CU kein signifikanter Unterschied gegenüber der in Bezug auf die Variationen jeweils stärker wirksamen Einzeldosis Cumarit<sup>®</sup>. Bei der Kombination von 350 mg/kg HU mit 0,5 bzw. 1,0 mg/kg CU stellt sich sogar ein antagonistischer Effekt heraus: Die Häufigkeit der Feten mit Variationen ist nach Applikation der Kombination signifikant geringer als die Häufigkeit nach Applikation des Pharmakons mit der stärkeren Wirkung.

Bei den Mißbildungen (Malformationen gesamt; s. a. Tabelle 24 im Anhang) zeigt sich zwar bei den niedrigen Kombinationen von 300 mg/kg HU mit 0,25 mg/kg CU bzw. 0,5 mg/kg CU auch kein signifikanter Anstieg des

Effekts durch die Kombination, jedoch für die höheren Kombinationsdosen, 300 mg/kg HU + 1,0 mg/kg CU und 350 mg/kg HU + 0,5 bzw. 1,0 mg/kg CU, zeigt sich deutlich ein Synergismus, die Anzahl der Feten mit Mißbildungen übersteigt hoch signifikant die Anzahl der Feten mit Mißbildungen bei der Applikation mit der jeweiligen Einzeldosis Hydroxyharnstoff, die in Bezug auf das Auftreten von Mißbildungen den stärkeren Effekt hat. Der Effekt ist jedoch nur nahezu additiv.

Es handelt sich dabei vor allem um einen signifikanten Anstieg der Feten mit geringgradigen Mißbildungen in den drei oben benannten Kombinationsdosen, ein Effekt der insbesondere bei der Kombination von Cumorit<sup>®</sup> mit 350 mg/kg Hydroxyharnstoff fast, oder ziemlich genau (350 mg/kg HU + 1 mg/kg CU), additiv ist.

Aber auch die Anzahl der Feten mit schweren Mißbildungen steigt gegenüber den jeweiligen Einzeldosen mit der stärkeren Wirkung an. Der Effekt ist allerdings nur überzeugend bei der Kombination mit den höchsten Dosen (350 mg/kg HU + 1 mg/kg CU). In diesem Falle ist der Effekt sogar überadditiv (350 mg/kg HU allein = 22%; 1 mg/kg CU allein = 10%; Kombination = 65%! ). Betroffen sind vor allem drei Bereiche: Schwanz, Wirbelsäule und Schädel (s. Tabelle 12 B). Überzeugend sind folgende Einzel-Abnormitäten erhöht (s. Tabelle 13 B): fehlender Schwanz, kurzer Schwanz, geknickter Schwanz - Gaumenspalten, fehlende Ossa tympanica - irreguläre Ossifikationszentren der Wirbelsäule, regelloses Kreuzbein. Interessanterweise sind einige andere Abnormitäten nicht in ihrer Häufigkeit verändert.

Auf den ersten Blick kommt auch bei der Kombination: 300 mg/kg HU + 0,25 mg/kg CU ein überadditiver Effekt zustande. Die Verhältnisse sind jedoch nicht so eindeutig und überzeugend wie bei dem vorher geschilderten Beispiel der Kombination hoher Dosen: Bei der Gabe von Cumorit<sup>®</sup> allein und von Hydroxyharnstoff allein ergibt sich eine klare Dosisabhängigkeit. Diese ist auch noch bei der Kombination mit 350 mg/kg HU erkennbar; nicht jedoch bei der Kombination mit 300 mg/kg HU! Der Wert von 16% (0,25 mg/kg CU + 300 mg/kg HU) fällt aus der Reihe. Es ist daher zweifelhaft, ob dieser Effekt real ist, zumal bei der nächst höheren Dosis (0,5 mg/kg CU + 300 mg/kg HU) kein überadditiver Effekt - sondern genau ein additiver Effekt - zu beobachten ist.

Es folgen der Untersuchung des Skeletts im einzelnen.

#### 4.3.2. Retardierungen

Die folgende Tabelle, Tabelle 6, zeigt die Verteilung der Retardierungsmerkmale auf die einzelnen Körperregionen, an denen wir solche Merkmale beobachten konnten für die Einzeldosen und die Kombinationen.

Tabelle 6 A  
Einzeldosen

RETARDIERUNGEN IN DEN EINZELNEN KÖRPERREGIONEN

| Pharmakon/Dosis (mg/kg): | Z   |      | A  |      | B   |      | C   |      | D   |      | E   |      | F   |      |
|--------------------------|-----|------|----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|
|                          | n   | %    | n  | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    |
| 1. Anzahl der Feten      | 777 |      | 95 |      | 137 |      | 111 |      | 109 |      | 221 |      | 144 |      |
| 2. O.B.                  | 534 | 68,7 | 66 | 69,5 | 40  | 29,2 | 18  | 16,2 | 57  | 52,3 | 95  | 43,0 | 47  | 32,6 |
| 3. nicht O.B.            | 243 | 31,3 | 29 | 30,5 | 97  | 70,8 | 93  | 83,8 | 52  | 47,7 | 126 | 57,0 | 97  | 67,4 |
| 4. Feten m. Retard.      | 156 | 20,1 | 19 | 20,0 | 89  | 65,0 | 80  | 72,1 | 39  | 35,8 | 100 | 45,2 | 77  | 53,5 |
| 5. Retard. - Schädel     | 107 | 13,8 | 12 | 12,6 | 42  | 30,7 | 43  | 38,7 | 36  | 33,0 | 91  | 41,2 | 69  | 47,9 |
| 6. Retard. - Sternum     | 1   | 0,1  | 0  | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 1   | 0,4  | 2   | 1,4  |
| 7. Retard. - Wirbelsäule | 56  | 7,2  | 8  | 8,4  | 69  | 50,4 | 57  | 51,3 | 6   | 5,5  | 17  | 7,7  | 14  | 9,7  |
| a. 1 - 2 O.Z. betr.      | 55  | 7,1  | 7  | 7,4  | 44  | 32,1 | 33  | 29,7 | 6   | 5,5  | 17  | 7,7  | 14  | 9,7  |
| b. > 2 O.Z. betr.        | 1   | 0,1  | 1  | 1,0  | 25  | 18,2 | 24  | 21,6 | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
| 8. Retard. - Extrem.     | 8   | 1,0  | 0  | 0    | 5   | 3,7  | 2   | 1,8  | 1   | 0,9  | 6   | 2,7  | 3   | 2,1  |
| a. vordere Extr. betr.   | 1   | 0,1  | 0  | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 1   | 0,9  | 2   | 0,9  | 2   | 1,4  |
| b. hintere Extr. betr.   | 8   | 1,0  | 0  | 0    | 5   | 3,7  | 2   | 1,8  | 1   | 0,9  | 6   | 2,7  | 1   | 0,7  |

Tabelle 6 B

Kombinationen

## RETARDIERUNGEN IN DEN EINZELNEN KÖRPERREGIONEN

| Pharmakon/Dosis (mg/kg): | G                   |      | H                  |      | I                   |      | J                  |      | K                  |      | L                  |      | M                  |      |
|--------------------------|---------------------|------|--------------------|------|---------------------|------|--------------------|------|--------------------|------|--------------------|------|--------------------|------|
|                          | HU 200<br>+ CU 0,25 | n %  | HU 200<br>+ CU 0,5 | n %  | HU 300<br>+ CU 0,25 | n %  | HU 300<br>+ CU 0,5 | n %  | HU 300<br>+ CU 1,0 | n %  | HU 350<br>+ CU 0,5 | n %  | HU 350<br>+ CU 1,0 | n %  |
| 1. Anzahl der Feten      | 15                  |      | 34                 |      | 69                  |      | 142                |      | 125                |      | 129                |      | 109                |      |
| 2. O.B.                  | 13                  | 86,7 | 27                 | 79,4 | 23                  | 33,3 | 45                 | 31,7 | 20                 | 16,0 | 13                 | 10,1 | 1                  | 0,9  |
| 3. nicht O.B.            | 2                   | 13,3 | 7                  | 20,6 | 46                  | 66,7 | 97                 | 68,3 | 105                | 84,0 | 116                | 98,9 | 108                | 99,1 |
| 4. Feten m. Retard.      | 2                   | 13,3 | 1                  | 2,9  | 38                  | 55,1 | 44                 | 31,0 | 91                 | 72,8 | 93                 | 72,1 | 91                 | 83,5 |
| 5. Retard. - Schädel     | 0                   | 0    | 1                  | 2,9  | 4                   | 5,8  | 24                 | 16,9 | 83                 | 66,4 | 72                 | 55,8 | 75                 | 68,8 |
| 6. Retard. - Sternum     | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 2                   | 2,9  | 0                  | 0    | 0                  | 0    | 2                  | 1,5  | 4                  | 3,7  |
| 7. Retard. - Wirbelsäule | 2                   | 13,3 | 0                  | 0    | 35                  | 50,7 | 31                 | 21,8 | 45                 | 36,0 | 47                 | 36,4 | 56                 | 51,4 |
| a. 1 - 2 O.Z. betr.      | 2                   | 13,3 | 0                  | 0    | 17                  | 24,6 | 24                 | 16,9 | 23                 | 18,4 | 36                 | 27,9 | 30                 | 27,5 |
| b. > 2 O.Z. betr.        | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 18                  | 26,1 | 7                  | 4,9  | 22                 | 17,6 | 11                 | 8,5  | 26                 | 23,8 |
| 8. Retard. - Extrem.     | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 0                   | 0    | 4                  | 2,8  | 3                  | 2,4  | 1                  | 0,8  | 6                  | 5,5  |
| a. vordere Extr. betr.   | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 0                   | 0    | 2                  | 1,4  | 2                  | 1,6  | 0                  | 0    | 1                  | 0,9  |
| b. hintere Extr. betr.   | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 0                   | 0    | 4                  | 2,8  | 2                  | 1,6  | 1                  | 0,8  | 6                  | 5,5  |

Beide Einzelsubstanzen zeigen bei ansteigender Dosierung eine Zunahme des Auftretens von Retardierungsmerkmalen. Hydroxyharnstoff zeigt insgesamt den stärkeren Effekt. Die Retardierungsmerkmale treten bei beiden Pharmaka insbesondere am Schädel auf und an der Wirbelsäule. Am Schädel ist der Effekt von Cumorit<sup>®</sup> stärker ausgeprägt. Der Effekt an der Wirbelsäule ist bei Hydroxyharnstoff sehr viel stärker; oftmals sind mehr als zwei Ossifikationszentren betroffen (bei HU 350 mg/kg 21,6%). Auch bei den Kombinationsversuchen treten die Effekte vor allem in diesen beiden Körperregionen auf. Wie die Tabelle 7 unten zeigt, handelt es sich am Schädel vor allen Dingen um mangelhaft verknöcherte Schädeldecken, siehe Abbildung 1 im Anhang, an der Wirbelsäule vor allem um symmetrisch trommelschlegelförmig geformte ventrale Ossifikationszentren, siehe Abbildung 13 im Anhang.

Die folgende Tabelle 7 zeigt die Häufigkeit der Retardierungen im Einzelnen im Kombinationsversuch (Tabelle 7 B) und bei den entsprechenden Einzeldosierungen (Tabelle 7 A). In der daran anschließenden Tabelle (Tab. 7 C) ist der Vergleich der Kombinationsdosen mit den jeweiligen Einzeldosierungen und die statistische Auswertung mittels des Chi-Quadrat-Testes tabellarisch aufgeführt.

Tabelle 7 A  
Einzeldosen

RETARDIERUNGEN IM EINZELNEN

| Pharmakon/Dosis (mg/kg):<br>Einzeldosen              | Z   |      | A  |      | B   |      | C   |      | D   |      | E   |      | F   |      |
|------------------------------------------------------|-----|------|----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|
|                                                      | n   | %    | n  | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    |
| Kontrolle                                            | 777 |      | 95 |      | 137 |      | 111 |      | 109 |      | 221 |      | 144 |      |
| 1. Anzahl der Feten                                  | 243 | 31,3 | 29 | 30,5 | 97  | 70,8 | 93  | 83,8 | 52  | 47,7 | 126 | 57,0 | 97  | 67,4 |
| 2. nicht O.B.                                        | 156 | 20,1 | 19 | 20,0 | 89  | 65,0 | 80  | 72,3 | 39  | 35,8 | 100 | 45,2 | 79  | 54,9 |
| 3. Feten m. Retard.                                  | 107 | 13,8 | 12 | 12,6 | 42  | 30,7 | 43  | 38,7 | 36  | 33,0 | 91  | 41,2 | 69  | 47,9 |
| 4. Retard. - Schädel                                 | 13  | 1,7  | 2  | 2,1  | 0   | 0    | 3   | 2,7  | 5   | 4,6  | 8   | 3,6  | 1   | 0,7  |
| a. Fontanelle sehr groß                              | 100 | 12,9 | 12 | 12,6 | 42  | 30,7 | 42  | 37,8 | 36  | 33,0 | 91  | 41,2 | 69  | 47,9 |
| b. Schädeldach mangelh. verknöchert                  |     |      |    |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |
| 5. Retard. - Sternum = fehlen von O.Z.               | 1   | 0,1  | 0  | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 1   | 0,4  | 2   | 1,4  |
| 6. Retard. - Wirbelsäule a. 1 - 2 O.Z. betr.         | 56  | 7,2  | 8  | 8,4  | 69  | 50,4 | 57  | 51,3 | 6   | 5,5  | 17  | 7,7  | 14  | 9,7  |
| b. > 2 O.Z. betr.                                    | 55  | 7,1  | 7  | 7,4  | 44  | 32,1 | 33  | 29,7 | 6   | 5,5  | 17  | 7,7  | 14  | 9,7  |
| c. ventrale O.Z. trommelschleigelf., sym.            | 1   | 0,1  | 1  | 1,0  | 25  | 18,2 | 24  | 21,6 | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
| d. 2 ventrale O.Z. sym.                              | 48  | 6,2  | 7  | 7,4  | 68  | 49,6 | 56  | 50,4 | 6   | 5,5  | 17  | 7,7  | 11  | 7,6  |
| e. ventrale O.Z. = fehlen HWS                        | 10  | 1,3  | 2  | 2,1  | 15  | 10,9 | 10  | 9,0  | 0   | 0    | 0   | 0    | 3   | 2,1  |
| 7. Retard. - Extrem. a. Vorderpfoten mangelh. verkn. | 8   | 1,0  | 0  | 0    | 5   | 3,7  | 2   | 1,8  | 1   | 0,9  | 6   | 2,7  | 3   | 2,1  |
| b. Hinterpfoten mangelh. verkn.                      | 1   | 0,1  | 0  | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 1   | 0,9  | 2   | 0,9  | 2   | 1,4  |
|                                                      | 8   | 1,0  | 0  | 0    | 5   | 3,7  | 2   | 1,8  | 1   | 0,9  | 6   | 2,7  | 1   | 0,7  |

Tabelle 7 B

Kombinationen

## RETARDIERUNGEN IM EINZELNEN

| Pharmakon/Dosis (mg/kg):                 | G      |           | H      |          | I      |           | J      |          | K      |          | L      |          | M      |          |
|------------------------------------------|--------|-----------|--------|----------|--------|-----------|--------|----------|--------|----------|--------|----------|--------|----------|
|                                          | HU 200 | + CU 0,25 | HU 200 | + CU 0,5 | HU 300 | + CU 0,25 | HU 300 | + CU 0,5 | HU 300 | + CU 1,0 | HU 350 | + CU 0,5 | HU 350 | + CU 1,0 |
|                                          | n      | %         | n      | %        | n      | %         | n      | %        | n      | %        | n      | %        | n      | %        |
| 1. Anzahl der Feten                      | 15     |           | 34     |          | 69     |           | 142    |          | 125    |          | 129    |          | 109    |          |
| 2. nicht O.B.                            | 2      | 13,3      | 7      | 20,6     | 46     | 66,7      | 97     | 68,3     | 105    | 84,0     | 116    | 98,9     | 108    | 99,1     |
| 3. Feten m. Retard.                      | 2      | 13,3      | 1      | 2,9      | 38     | 55,1      | 44     | 31,0     | 91     | 72,8     | 93     | 72,1     | 91     | 83,5     |
| 4. Retard. - Schädel                     | 0      | 0         | 1      | 2,9      | 4      | 5,8       | 24     | 16,9     | 83     | 66,4     | 72     | 55,8     | 75     | 68,8     |
| a. Fontanelle sehr groß                  | 0      | 0         | 0      | 0        | 0      | 0         | 1      | 0,7      | 1      | 0,8      | 4      | 3,1      | 2      | 1,8      |
| b. Schädeldach mangelh. verknöchert      | 0      | 0         | 1      | 2,9      | 4      | 5,8       | 24     | 16,9     | 83     | 66,4     | 72     | 55,8     | 75     | 68,8     |
| 5. Retard. - Sternum = fehlen von O.Z.   | 0      | 0         | 0      | 0        | 2      | 2,9       | 0      | 0        | 0      | 0        | 2      | 1,5      | 4      | 3,7      |
| 6. Retard. - Wirbelsäule                 | 2      | 13,3      | 0      | 0        | 35     | 50,7      | 31     | 21,8     | 45     | 36,0     | 47     | 36,4     | 56     | 51,4     |
| a. 1 - 2 O.Z. betr.                      | 2      | 13,3      | 0      | 0        | 17     | 24,6      | 24     | 16,9     | 23     | 18,4     | 36     | 27,9     | 30     | 27,5     |
| b. > 2 O.Z. betr.                        | 0      | 0         | 0      | 0        | 18     | 26,1      | 7      | 4,9      | 22     | 17,6     | 11     | 8,5      | 26     | 23,8     |
| c. ventrale O.Z. trommelschlegelf., sym. | 2      | 13,3      | 0      | 0        | 35     | 50,7      | 26     | 18,3     | 42     | 33,6     | 40     | 31,0     | 45     | 41,3     |
| d. 2 ventrale O.Z. sym.                  | 0      | 0         | 0      | 0        | 4      | 5,8       | 9      | 6,3      | 4      | 3,2      | 9      | 7,0      | 17     | 15,6     |
| e. ventrale O.Z. = fehlen HWS            | 0      | 0         | 0      | 0        | 1      | 1,4       | 0      | 0        | 0      | 0        | 0      | 0        | 0      | 0        |
| 7. Retard. - Extren.                     | 0      | 0         | 0      | 0        | 0      | 0         | 4      | 2,8      | 3      | 2,4      | 1      | 0,8      | 6      | 5,5      |
| a. Vorderpfoten mangelh. verkn.          | 0      | 0         | 0      | 0        | 0      | 0         | 2      | 1,4      | 2      | 1,6      | 0      | 0        | 1      | 0,9      |
| b. Hinterpfoten mangelh. verkn.          | 0      | 0         | 0      | 0        | 0      | 0         | 4      | 2,8      | 2      | 1,6      | 1      | 0,8      | 6      | 5,5      |

Tabelle 7 C

Retardierungen im Einzelnen - Vergleich der Ergebnisse der Versuche  
mit Kombinationsdosierungen mit den jeweiligen Einzeldosierungen

| Kombinations-<br>dosen:                    | HU 300 +<br>CU 0,25              | HU 300 +<br>CU 0,5               | HU 300 +<br>CU 1,0               | HU 350 +<br>CU 0,5               | HU 350 +<br>CU 1,0               |
|--------------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Vergleich                                  | HU                               | CU                               | HU                               | CU                               | HU                               |
| Feten mit<br>Retard.                       | $\downarrow^* \emptyset$<br>1,50 | $\downarrow^* ! !$<br>30,92      | $\downarrow^* \emptyset$<br>1,52 | $\downarrow^* \emptyset$<br>0,02 | $\downarrow^* \emptyset$<br>3,50 |
| $\chi^2$                                   |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |
| Schäldach<br>mangelhaft<br>verkn.          | $\downarrow$<br>16,45            | $\downarrow^* ! !$<br>22,43      | $\downarrow^* ! !$<br>8,56       | $\downarrow^* !$<br>6,44         | $\downarrow^* ! !$<br>10,21      |
| $\chi^2$                                   |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |
| Sternum - Fehlen<br>von O.Z.               | $\downarrow \emptyset$<br>1,56   | $\downarrow^* \emptyset$<br>0,05 | $\downarrow^* \emptyset$<br>0,37 | $\downarrow^* \emptyset$<br>0,22 | $\downarrow^* \emptyset$<br>0,58 |
| $\chi^2$                                   |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |
| Wirbels. - ventr. O.Z.<br>trommelschlegef. | $\downarrow^* \emptyset$<br>0,00 | $\downarrow^* ! !$<br>29,24      | $\downarrow^* !$<br>6,26         | $\downarrow^* ! !$<br>8,60       | $\downarrow^* \emptyset$<br>1,52 |
| $\chi^2$                                   |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |
| - 2 ventr. O.Z.<br>sym.                    | $\downarrow^* \emptyset$<br>0,90 | $\downarrow^* \emptyset$<br>1,34 | $\downarrow^* !$<br>4,74         | $\downarrow^* \emptyset$<br>0,12 | $\downarrow^* ! !$<br>13,76      |
| $\chi^2$                                   |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |
| Vorderpfoten<br>mangelh. verkn.            | $\downarrow^* \emptyset$<br>0,05 | $\downarrow^* \emptyset$<br>0,00 | $\downarrow^* \emptyset$<br>0,12 | $\downarrow^* \emptyset$<br>0,12 | $\downarrow^* \emptyset$<br>0,06 |
| $\chi^2$                                   |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |
| Hinterpfoten<br>mangelh. verkn.            | $\downarrow^* \emptyset$<br>1,27 | $\downarrow^* \emptyset$<br>0,00 | $\downarrow^* \emptyset$<br>0,41 | $\downarrow^* \emptyset$<br>0,73 | $\downarrow^* \emptyset$<br>1,22 |
| $\chi^2$                                   |                                  |                                  |                                  |                                  |                                  |

Die Zahlen geben die  $\chi^2$ -Werte an;  $\chi^2 > 3,8$  = signifikant;  $\chi^2 > 6,6$  = hoch signifikant.  $\downarrow$  /  $\downarrow^*$  /  $\downarrow^* !$  = bedeutet: der entsprechende Parameter liegt bei der Kombination geringer/höher/etwa gleich wie in der Einzeldosierung. Die Einzeldosis mit dem höheren Effekt ist mit \* markiert.  $\emptyset$ : nicht signifikant; !: signifikant; !!: hoch signifikant. Die Angaben beziehen sich auf die Daten in den Tabellen 7 A und 7 B.

Am Schädel zeigt sich für die Retardierungszeichen (Tabelle 7) bzw. den Parameter "Schädeldach mangelhaft verknöchert" - die Zahlen sind fast identisch - bei den Feten, deren Mütter 300 mg/kg HU plus 0,25 mg/kg CU verabreicht bekamen, ein Abfall gegenüber der CU-Dosis mit der stärkeren Wirkung ( $\chi^2 = 16,45 =$  hoch signifikant). Ebenso bei der weitaus mehr Feten zählenden Gruppe des Hauptversuchs mit der Dosierung 300 mg/kg HU + 0,5 mg/kg CU ( $\chi^2 = 22,43 =$  hoch signifikant). Ist dieser Effekt nicht durch eine biologische Schwankung bedingt (die Rate liegt zum Teil unter der Kontrollrate), so handelt es sich also in diesen beiden Fällen um einen Antagonismus. Hingegen steigt die Rate der Retardierungen am Schädel signifikant bzw. hoch signifikant gegenüber derjenigen bei Applikation von Cumorit<sup>®</sup> allein bei den höheren Kombinationsdosen (300 mg/kg HU plus 1,0 mg/kg CU und 350 mg/kg HU plus 0,5 bzw. 1,0 mg/kg CU/  $\chi^2$  bei K: F = 8,56 = hoch signifikant, L: E = 6,44 = signifikant; M: F = 10,21 = hoch signifikant - die Buchstaben geben die Dosierungsgruppen in den Tabellen an).

Wenn auch insgesamt für die Retardierungen durch die Kombination kein Effekt zu verzeichnen ist, so ist hier bei den Retardierungen am Schädel bei den höheren Dosen ein Synergismus von weniger als additiver Wirkung zu beobachten im Gegensatz zum Antagonismus bei den niedrigeren Kombinationsdosen.

Auch an der Wirbelsäule ist eine antagonistische Beziehung zwischen den beiden Pharmaka der Kombination zu erkennen. In den Dosierungen 300 mg/kg HU + 0,5 mg/kg CU bzw. 1,0 mg/kg CU und 350 mg/kg HU + 0,5 mg/kg CU treten bei der Kombination signifikant weniger Retardierungsmerkmale auf als nach Gabe von Hydroxyharnstoff allein, ( $\chi^2$  J: B = 23,46 = hoch signifikant,  $\chi^2$  K: B = 4,92 = signifikant,  $\chi^2$  L: C = 4,82 = signifikant). Erst bei der Dosierung 350 mg/kg HU + 1,0 mg/kg CU erreicht die Häufigkeit bei der Kombination den Wert nach Gabe von nur Hydroxyharnstoff ( $\chi^2$  M: C = 0,02 - Die Bezeichnungen J/B/K/L/C/M beziehen sich auf Tabelle 7 A/B, Parameter Retard. Wirbelsäule).

Der ab der Dosierung 300 mg/kg HU + 0,25 mg/kg CU signifikant auftretende gewichtsretardierende Effekt (s.o., Tab. 3 A und 3 B) durch die Kombination von Hydroxyharnstoff und Östrogen/Gestagen läßt sich also nicht mit einem vermehrten Auftreten von Retardierungsmerkmalen am Skelett in Verbindung bringen.

#### 4.3.3. Variationen

Die folgende Tabelle 8 A/B zeigt das Auftreten von Variationen am Skelett in den einzelnen Körperregionen, die von Variationsmerkmalen betroffen waren.

Bei der Einzelgabe treten Variationen (besonders "wellige Rippen") praktisch nur in den Cumorit<sup>®</sup>-Gruppen - dosisabhängig - auf. In den beiden Gruppen mit den höheren Cumorit<sup>®</sup>-Dosierungen steigt die Rate auf 17% bis 21% an. Diese Variation ("wellige Rippen") kommt allerdings auch bei den Kontrollen bei 6% der Feten vor. Die Behandlung mit Hydroxyharnstoff scheint diese "spontane" Rate herabzusetzen.



Tabelle 8 B

Kombinationen

VARIATIONEN IN DEN EINZELNEN KÖRPERREGIONEN

| Pharmakon/Dosis (mg/kg): | G  |      | H  |      | I  |      | J   |      | K   |      | L   |      | M   |      |
|--------------------------|----|------|----|------|----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|
|                          | n  | %    | n  | %    | n  | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    |
| 1. Anzahl der Feten      | 15 |      | 34 |      | 69 |      | 142 |      | 125 |      | 129 |      | 109 |      |
| 2. O.B.                  | 13 | 86,7 | 27 | 79,4 | 23 | 33,3 | 45  | 31,7 | 20  | 16,0 | 13  | 10,1 | 1   | 0,9  |
| 3. nicht O.B.            | 2  | 13,3 | 7  | 20,6 | 46 | 66,7 | 97  | 68,3 | 105 | 84,0 | 116 | 98,9 | 108 | 99,1 |
| 4. Feten m. Variat.      | 0  | 0    | 6  | 17,6 | 8  | 11,6 | 32  | 22,5 | 34  | 27,2 | 7   | 5,4  | 11  | 10,1 |
| 5. Variat. - Sternum     | 0  | 0    | 4  | 11,8 | 7  | 10,1 | 21  | 14,8 | 14  | 11,2 | 4   | 3,1  | 4   | 3,7  |
| 6. Variat. - Rippen      | 0  | 0    | 2  | 5,8  | 1  | 1,4  | 18  | 12,7 | 12  | 9,6  | 3   | 2,3  | 4   | 3,7  |
| 7. Variat. - Extrem.     | 0  | 0    | 0  | 0    | 0  | 0    | 3   | 2,1  | 12  | 9,6  | 2   | 1,5  | 4   | 3,7  |
| a. vordere Extr. betr.   | 0  | 0    | 0  | 0    | 0  | 0    | 3   | 2,1  | 12  | 9,6  | 2   | 1,5  | 4   | 3,7  |
| b. hintere Extr. betr.   | 0  | 0    | 0  | 0    | 0  | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 1   | 0,8  | 0   | 0    |

Wie in der Übersichtstabelle (Tab. 4 A/B, S. 29/30) bereits gezeigt, tritt bei den hohen Kombinationsdosen (350 mg/kg HU + 0,5 bzw. 1,0 mg/kg CU) eine Abschwächung des Effektes auf, d.h. es sind insgesamt signifikant weniger Feten von Variationen betroffen, als es bei der Behandlung mit der jeweiligen Einzeldosis Cumorit® allein der Fall war. Wie aus Tabelle 8 deutlich wird, ist dies vornehmlich durch ein vermindertes Auftreten von Variationen an den Rippen bedingt, und zwar fällt dabei das verminderte Auftreten von welligen Rippen ins Gewicht, wie es die Tabelle 9 unten zeigt, in der die einzelnen Variationen aufgelistet sind. Bereits bei der Dosierung 300 mg/kg HU plus 1,0 mg/kg CU liegt die Anzahl der Variationen an den Rippen signifikant unter dem Vergleichswert in der Cumorit®-Einzeldosierung ( $\chi^2$  K: F = 6,23 = signifikant), ebenso bei den Kombinationen mit höheren Hydroxyharnstoff-Dosierungen ( $\chi^2$  L: E = 13,33 = hoch signifikant,  $\chi^2$  M: F = 12,26 = hoch signifikant). Die Abbildung 3 im Anhang zeigt einen Feten mit welligen Rippen. In den anderen Körperregionen ist dieser abschwächende Effekt in Bezug auf die Variationen nicht vorhanden. Variationen treten hier jedoch auch recht selten auf.

Der Antagonismus in Bezug auf die Variationsrate insgesamt beruht also auf einem verminderten Auftreten von welligen Rippen in den Dosierungen 350 mg/kg HU + 0,5 bzw. 1,0 mg/kg CU. Dieser Abschwächungseffekt trifft auch für die Dosierung 300 mg/kg HU + 1,0 mg/kg CU zu, was sich jedoch in der Rate der Feten mit Variation insgesamt nicht ausdrückt, da hier die Feten mit eingehen, die am Sternum und an den Extremitäten etwas häufiger Variationen aufweisen als es in der Cumorit®-Einzeldosierung der Fall ist.

Die folgenden Tabellen 9 A und B zeigen die Variationen im einzelnen. Die darauf folgende Tabelle 9 C zeigt den Vergleich der Kombinationsdosen mit den jeweiligen Einzeldosierungen und die statische Auswertung mittels des Chi-Quadrat-Testes in tabellarischer Form.

Es soll noch erwähnt werden, daß wir jetzt die welligen Rippen eher einer gesonderten Gruppe von Abnormitäten zuordnen wollen. Zwar handelt es sich - wie bei den Variationen allgemein - schon um Veränderungen die auch bei den Kontrollen in einem - bei verschiedenen Versuchsserien durchaus variablen - gewissen Prozentsatz auftreten, es sind aber doch echte strukturelle Abnormitäten. Der Unterschied zu den minor abnormalities besteht darin, daß die welligen Rippen reversibel sind. Wir möchten sie daher als vorübergehende strukturelle Abnormitäten einer eigenen Klasse von Abnormitäten zuordnen.



Tabelle 9 B

Kombinationen

## VARIATIONEN IM EINZELNEN

| Pharmakon/Dosis (mg/kg):     | G      |           | H      |          | I      |           | J      |          | K      |          | L      |          | M      |          |
|------------------------------|--------|-----------|--------|----------|--------|-----------|--------|----------|--------|----------|--------|----------|--------|----------|
|                              | HU 200 | + CU 0,25 | HU 200 | + CU 0,5 | HU 300 | + CU 0,25 | HU 300 | + CU 0,5 | HU 300 | + CU 1,0 | HU 350 | + CU 0,5 | HU 350 | + CU 1,0 |
|                              | n      | %         | n      | %        | n      | %         | n      | %        | n      | %        | n      | %        | n      | %        |
| 1. Anzahl der Feten          | 15     |           | 34     |          | 69     |           | 142    |          | 125    |          | 129    |          | 109    |          |
| 2. nicht O.B.                | 2      | 13,3      | 7      | 20,6     | 46     | 66,7      | 97     | 68,3     | 105    | 84,0     | 116    | 98,9     | 108    | 99,1     |
| 3. Feten m. Variat.          | 0      | 0         | 6      | 17,6     | 8      | 11,6      | 32     | 22,5     | 34     | 27,2     | 7      | 5,4      | 11     | 10,1     |
| 4. Variat. - Sternum         | 0      | 0         | 4      | 11,8     | 7      | 10,1      | 21     | 14,8     | 14     | 11,2     | 4      | 3,1      | 4      | 3,7      |
| a. oberstes O.Z. gekerbt     | 0      | 0         | 3      | 8,8      | 5      | 7,2       | 20     | 14,1     | 11     | 8,8      | 3      | 2,3      | 2      | 1,8      |
| b. zusätzliche O.Z.          | 0      | 0         | 1      | 2,9      | 2      | 2,9       | 1      | 0,7      | 3      | 2,4      | 1      | 0,8      | 2      | 1,8      |
| 5. Variat. - Rippen          | 0      | 0         | 2      | 5,9      | 1      | 1,4       | 18     | 12,7     | 12     | 9,6      | 3      | 2,3      | 4      | 3,7      |
| a. 13. Rippe fehlt           | 0      | 0         | 0      | 0        | 1      | 1,4       | 0      | 0        | 0      | 0        | 0      | 0        | 1      | 0,9      |
| b. Rippen wellig             | 0      | 0         | 2      | 5,9      | 0      | 0         | 18     | 12,7     | 12     | 9,6      | 3      | 2,3      | 4      | 3,7      |
| 6. Variat. - Extrem.         | 0      | 0         | 0      | 0        | 0      | 0         | 3      | 2,1      | 12     | 9,6      | 2      | 1,5      | 4      | 3,7      |
| 6.1. vord. Extr. betr.       | 0      | 0         | 0      | 0        | 0      | 0         | 3      | 2,1      | 12     | 9,6      | 2      | 1,5      | 4      | 3,7      |
| a. Scapula porös eins.       | 0      | 0         | 0      | 0        | 0      | 0         | 1      | 0,7      | 0      | 0        | 0      | 0        | 0      | 0        |
| b. Scapula porös bds.        | 0      | 0         | 0      | 0        | 0      | 0         | 2      | 1,4      | 12     | 9,6      | 2      | 1,5      | 4      | 3,7      |
| c. Humerus porös eins.       | 0      | 0         | 0      | 0        | 0      | 0         | 0      | 0        | 0      | 0        | 0      | 0        | 0      | 0        |
| d. Humerus porös bds.        | 0      | 0         | 0      | 0        | 0      | 0         | 2      | 1,4      | 2      | 1,6      | 1      | 0,8      | 0      | 0        |
| e. Radius - Ulna porös eins. | 0      | 0         | 0      | 0        | 0      | 0         | 0      | 0        | 0      | 0        | 0      | 0        | 0      | 0        |
| f. Radius - Ulna porös bds.  | 0      | 0         | 0      | 0        | 0      | 0         | 1      | 0,7      | 1      | 0,8      | 1      | 0,8      | 0      | 0        |
| 6.2. hintere Extr. betr.     | 0      | 0         | 0      | 0        | 0      | 0         | 0      | 0        | 0      | 0        | 1      | 0,8      | 0      | 0        |
| a. Femur porös eins.         | 0      | 0         | 0      | 0        | 0      | 0         | 0      | 0        | 0      | 0        | 0      | 0        | 0      | 0        |
| b. Femur porös bds.          | 0      | 0         | 0      | 0        | 0      | 0         | 0      | 0        | 0      | 0        | 1      | 0,8      | 0      | 0        |

Tabelle 9 C

Variationen im Einzelnen - Vergleich der Ergebnisse  
der Versuche mit Kombinationsdosierungen mit den Ergebnissen  
bei den jeweiligen Einzeldosierungen

| Kombinations-<br>dosen:                | HU 300 +<br>CU 0,25 | CU            | HU | CU            | HU 300 +<br>CU 0,5 | CU            | HU | CU               | HU 350 +<br>CU 0,5 | CU               | HU 350 +<br>CU 1,0 |
|----------------------------------------|---------------------|---------------|----|---------------|--------------------|---------------|----|------------------|--------------------|------------------|--------------------|
| Vergleich                              | HU                  | CU            | HU | CU            | HU                 | CU            | HU | CU               | HU                 | CU               | CU                 |
| Feten mit<br>Variationen(**) $\chi^2$  | †                   | ↓ * Ø<br>0,04 | †  | = * Ø<br>0,00 | †                  | † * Ø<br>0,00 | †  | ↓ * ! !<br>15,77 | †                  | ↓ * ! !<br>9,53  |                    |
| Variat. am<br>Sternum $\chi^2$         | †                   | ↓ * Ø<br>0,14 | †  | * ! !<br>8,06 | †                  | † * Ø<br>2,91 | †  | ↓ * Ø<br>3,77    | †                  | ↓ * Ø<br>0,02    |                    |
| Rippen wellig(*)<br>$\chi^2$           | ↓                   | ↓ * Ø<br>2,42 | †  | ↓ * Ø<br>0,82 | †                  | ↓ * !<br>6,23 | †  | ↓ * ! !<br>13,33 | †                  | ↓ * ! !<br>12,26 |                    |
| Scapula porös<br>eins./beids. $\chi^2$ | =                   | ↓ * Ø<br>0,05 | †  | ↓ * Ø<br>3,12 | †                  | † * Ø<br>1,06 | †  | ↓ * Ø<br>0,97    | †                  | ↓ * Ø<br>0,16    |                    |
| Humerus porös<br>eins./beids. $\chi^2$ | =                   | =             | †  | ↓ * Ø<br>0,21 | †                  | ↓ * Ø<br>0,03 | †  | ↓ * Ø<br>0,73    | =                  | ↓ * Ø<br>0,86    |                    |

(\*) wird auch als "reversible Mißbildung" eingestuft.

(\*\*) einschließlich "wellige Rippen".

Die Zahlen geben die  $\chi^2$ -Werte an;  $\chi^2 > 3,8$  = signifikant;  $\chi^2 > 6,6$  = hoch signifikant. † / † = bedeutet: der entsprechende Parameter liegt bei der Kombination geringer/höher/etwa gleich wie in der Einzeldosierung. Die Einzeldosis mit dem höheren Effekt ist mit \* markiert. Ø: nicht signifikant; !: signifikant; !!: hoch signifikant. Die Angaben beziehen sich auf die Daten in den Tabellen 9 A und 9 B.

#### 4.3.4. Geringgradige Mißbildungen (Malformationen minor)

Die Tabelle 10 A und B zeigt die Häufigkeit von Feten mit geringgradigen Mißbildungen in den einzelnen Körperregionen für die Kombinationsversuche und deren Einzeldosierungen.

Die Übersichtstabelle (Tab. 4 A/B) auf Seite 29/30 hat gezeigt, daß in Bezug auf die Häufigkeit der Feten mit geringgradigen Mißbildungen bei der niedrigeren Dosis des Vorversuchs 300 mg/kg HU + 0,25 CU bzw. + 0,5 mg/kg CU sich eher eine Abschwächung des Effektes durch die Kombination bzw. keine Veränderung gegenüber dem stärker ausgeprägten Effekt der Einzeldosierung abzeichnete. Bei den höheren Dosierungen im Hauptversuch wird ein Synergismus deutlich. Insgesamt hat Hydroxyharnstoff die stärkere Wirkung in Bezug auf die geringgradigen Mißbildungen. Am Schädel jedoch wirken die Cumorit<sup>®</sup>-Dosen in dieser Beziehung stärker als die Dosis von 300 mg/kg HU ebenso an den Extremitäten, hier auch im Vergleich zu 350 mg/kg HU.

Besonders deutlich wird die Verstärkung der Wirkung durch die Kombination am Schädel, eine deutliche Verstärkung der Wirkung ist ebenfalls bei der höchsten Kombinationsdosis am Sternum und der Wirbelsäule sichtbar. An den Extremitäten fällt die Rate der geringgradigen Mißbildungen eher, jedoch insgesamt sind hier die Unterschiede unwesentlich.

Es folgen die Tabellen 10 A und B (Seite 49 und 50) mit den Malformationen minor in den einzelnen Körperregionen.

Anschließend (Seite 51 bis 54) die Tabellen 11 A und B, in denen die geringgradigen Mißbildungen im einzelnen aufgelistet sind.

Tabelle 10 A  
Einzeldosen

MALFORMATIONEN MINOR IN DEN EINZELNEN KÖRPERREGIONEN

| Pharmakon/Dosis/(mg/kg)              | Z<br>Kontrolle | A      |      | B      |      | C      |      | D       |      | E      |      | F      |      |
|--------------------------------------|----------------|--------|------|--------|------|--------|------|---------|------|--------|------|--------|------|
|                                      |                | HU 200 | %    | HU 300 | %    | HU 350 | %    | CU 0,25 | %    | CU 0,5 | %    | CU 1,0 | %    |
|                                      | n              | n      | %    | n      | %    | n      | %    | n       | %    | n      | %    | n      | %    |
| 1. Anzahl der Feten                  | 777            | 95     |      | 137    |      | 111    |      | 109     |      | 221    |      | 144    |      |
| 2. O.B.                              | 534            | 66     | 68,7 | 40     | 29,2 | 18     | 16,2 | 57      | 52,3 | 95     | 43,0 | 47     | 32,6 |
| 3. nicht O.B.                        | 243            | 29     | 31,3 | 97     | 70,8 | 93     | 83,8 | 52      | 47,7 | 126    | 57,0 | 97     | 67,4 |
| 4. Feten m. Malform. minor           | 61             | 5      | 7,8  | 48     | 35,0 | 68     | 61,3 | 23      | 21,1 | 55     | 24,9 | 43     | 29,9 |
| 5. Malform. minor - Schädel          | 50             | 3      | 6,4  | 15     | 10,9 | 34     | 30,6 | 21      | 19,3 | 43     | 19,5 | 35     | 24,3 |
| 6. Malform. minor - Sternum          | 3              | 0      | 0,4  | 5      | 3,6  | 6      | 5,4  | 0       | 0    | 3      | 1,4  | 3      | 2,1  |
| 7. Malform. minor - Wirbel-<br>säule | 9              | 2      | 1,2  | 39     | 28,5 | 49     | 44,1 | 2       | 1,8  | 0      | 0    | 5      | 3,5  |
| a. 1 - 2 O.Z. betr.                  | 8              | 2      | 1,0  | 33     | 24,1 | 33     | 29,7 | 2       | 1,8  | 0      | 0    | 5      | 3,5  |
| b. > 2 O.Z. betr.                    | 1              | 0      | 0,1  | 6      | 4,4  | 16     | 14,4 | 0       | 0    | 0      | 0    | 0      | 0    |
| 8. Malform. minor - Extrem.          | 0              | 0      | 0    | 0      | 0    | 2      | 1,8  | 0       | 0    | 13     | 5,9  | 5      | 3,5  |
| a. vordere Extr. betr.               | 0              | 0      | 0    | 0      | 0    | 0      | 0    | 0       | 0    | 13     | 5,9  | 4      | 2,8  |
| b. hintere Extr. betr.               | 0              | 0      | 0    | 0      | 0    | 2      | 1,8  | 0       | 0    | 0      | 0    | 1      | 0,7  |

Tabelle 10 B

Kombinationen

## MALFORMATIONEN MINOR IN DEN EINZELNEN KÖRPERREGIONEN

| Pharmakon/Dosis (mg/kg):        | G  |      |  | H  |      |  | I  |      |  | J   |      |  | K   |      |  | L   |      |  | M   |      |  |
|---------------------------------|----|------|--|----|------|--|----|------|--|-----|------|--|-----|------|--|-----|------|--|-----|------|--|
|                                 | n  | %    |  | n  | %    |  | n  | %    |  | n   | %    |  | n   | %    |  | n   | %    |  | n   | %    |  |
| 1. Anzahl der Feten             | 15 |      |  | 34 |      |  | 69 |      |  | 142 |      |  | 125 |      |  | 129 |      |  | 109 |      |  |
| 2. O.B.                         | 13 | 86,7 |  | 27 | 79,4 |  | 23 | 33,3 |  | 45  | 31,7 |  | 20  | 16,0 |  | 13  | 10,1 |  | 1   | 0,9  |  |
| 3. nicht O.B.                   | 2  | 13,3 |  | 7  | 20,6 |  | 46 | 66,7 |  | 97  | 68,3 |  | 105 | 84,0 |  | 116 | 98,9 |  | 108 | 99,1 |  |
| 4. Feten m. Malform. minor      | 1  | 6,7  |  | 0  | 0    |  | 14 | 20,3 |  | 54  | 38,0 |  | 70  | 56,0 |  | 107 | 82,9 |  | 103 | 94,5 |  |
| 5. Malform. minor - Schädel     | 0  | 0    |  | 0  | 0    |  | 0  | 0    |  | 39  | 27,5 |  | 57  | 45,6 |  | 90  | 79,8 |  | 76  | 69,7 |  |
| 6. Malform. minor - Sternum     | 0  | 0    |  | 0  | 0    |  | 5  | 7,2  |  | 6   | 4,2  |  | 6   | 4,8  |  | 8   | 6,2  |  | 16  | 14,7 |  |
| 7. Malform. minor - Wirbelsäule | 1  | 6,7  |  | 0  | 0    |  | 10 | 14,5 |  | 23  | 16,2 |  | 28  | 22,4 |  | 65  | 50,4 |  | 95  | 87,2 |  |
| a. 1 - 2 O.Z. betr.             | 1  | 6,7  |  | 0  | 0    |  | 9  | 13,0 |  | 17  | 12,0 |  | 25  | 20,0 |  | 46  | 35,7 |  | 38  | 34,9 |  |
| b. > 2 O.Z. betr.               | 0  | 0    |  | 0  | 0    |  | 1  | 1,4  |  | 6   | 4,2  |  | 3   | 2,4  |  | 19  | 14,7 |  | 57  | 52,3 |  |
| 8. Malform. minor - Extrem.     | 0  | 0    |  | 0  | 0    |  | 2  | 2,9  |  | 4   | 2,8  |  | 3   | 2,4  |  | 1   | 0,8  |  | 3   | 2,7  |  |
| a. vordere Extr. betr.          | 0  | 0    |  | 0  | 0    |  | 2  | 2,9  |  | 3   | 2,1  |  | 3   | 2,4  |  | 0   | 0    |  | 2   | 1,8  |  |
| b. hintere Extr. betr.          | 0  | 0    |  | 0  | 0    |  | 0  | 0    |  | 2   | 1,4  |  | 0   | 0    |  | 1   | 0,8  |  | 1   | 0,9  |  |

Tabelle 11 A  
Einzeldosen

MALFORMATIONEN MINOR IM EINZELNEN

| Pharmakon/Dosis (mg/kg):                      | Z<br>Kontrolle | A    |   | B      |     | C    |        | D    |      | E      |      | F    |        |
|-----------------------------------------------|----------------|------|---|--------|-----|------|--------|------|------|--------|------|------|--------|
|                                               |                | n    | % | HU 200 | n   | %    | HU 300 | n    | %    | HU 350 | n    | %    | CU 1,0 |
| 1. Anzahl der Feten                           | 777            | 95   |   |        | 137 |      |        | 111  |      |        | 221  |      | 144    |
| 2. nicht O.B.                                 | 243            | 31,3 |   | 30,5   | 97  | 70,8 | 83,8   | 52   | 47,7 | 83,8   | 126  | 57,0 | 97     |
| 3. Feten m. Malform. minor                    | 61             | 7,8  |   | 5,3    | 48  | 35,0 | 61,3   | 23   | 21,1 | 55     | 24,9 | 43   | 29,9   |
| 4. Malform. minor - Schädel                   | 50             | 6,4  |   | 3,2    | 15  | 10,9 | 34     | 30,6 | 21   | 19,3   | 43   | 19,5 | 35     |
| a. Os Zygomat. verw. eins.                    | 38             | 4,9  |   | 1,0    | 8   | 5,8  | 17     | 15,3 | 6    | 5,5    | 19   | 8,6  | 19     |
| b. Os Zygomat. verw. bds.                     | 12             | 1,5  |   | 2,1    | 7   | 5,1  | 17     | 15,3 | 15   | 13,8   | 24   | 10,9 | 16     |
| c. zusätzl. O.Z. über                         |                |      |   |        |     |      |        |      |      |        |      |      |        |
| d. Os nasale *                                | 0              | 0    |   | 0      | 0   | 0    | 0      | 0    | 0    | 0      | 0    | 0    | 0      |
| 5. Malform. minor - Sternum                   | 3              | 0,4  |   | 0      | 5   | 3,6  | 5,4    | 0    | 0    | 5,4    | 3    | 1,4  | 3      |
| a. 2 O.Z. verwachsen                          | 3              | 0,4  |   | 0      | 5   | 3,6  | 5,4    | 0    | 0    | 5,4    | 3    | 1,4  | 3      |
| b. > 2 O.Z. verwachsen                        | 0              | 0    |   | 0      | 0   | 0    | 0      | 1    | 0,9  | 0      | 0    | 0    | 0      |
| c. Sternum gespalten                          | 0              | 0    |   | 0      | 0   | 0    | 0      | 0    | 0    | 0      | 0    | 0    | 0      |
| d. Sternum irreg. verkn.                      | 0              | 0    |   | 0      | 0   | 0    | 0      | 0    | 0    | 0      | 0    | 0    | 0      |
| 6. Malform. minor - Wirbel-<br>säule          | 9              | 1,2  |   | 2,1    | 39  | 28,5 | 49     | 44,1 | 2    | 1,8    | 0    | 0    | 5      |
| a. 1 - 2 O.Z. betr.                           | 8              | 1,0  |   | 2,1    | 33  | 24,1 | 33     | 29,7 | 2    | 1,8    | 0    | 0    | 5      |
| b. > 2 O.Z. betr.                             | 1              | 0,1  |   | 0      | 6   | 4,4  | 16     | 14,4 | 0    | 0      | 0    | 0    | 0      |
| c. ventrale O.Z. trom-<br>melschleigef. asym. | 9              | 1,2  |   | 2,1    | 34  | 24,8 | 45     | 40,5 | 2    | 1,8    | 0    | 0    | 5      |
| d. 2 ventrale O.Z. asym.                      | 1              | 0,1  |   | 0      | 7   | 5,1  | 3      | 2,7  | 0    | 0      | 0    | 0    | 0      |
| e. ventrale O.Z. fehlen                       | 0              | 0    |   | 0      | 0   | 0    | 0      | 0    | 0    | 0      | 0    | 0    | 0      |
| f. laterale O.Z. fehlen<br>(BWS/LWS/KWS)      | 1              | 0,1  |   | 0      | 1   | 0,7  | 4      | 3,6  | 0    | 0      | 0    | 0    | 0      |
| g. Atlas gespalten                            | 0              | 0    |   | 0      | 0   | 0    | 0      | 0    | 0    | 0      | 0    | 0    | 0      |

\* ist in der Summe der Feten mit Malformationen minor nicht enthalten.



Tabelle 11 B

Kombinationen

## MALFORMATIONEN MINOR IM EINZELNEN

| Pharmakon/Dosis (mg/kg):                      | G                   |      | H                  |      | I                   |      | J                  |      | K                  |      | L                  |      | M                  |      |
|-----------------------------------------------|---------------------|------|--------------------|------|---------------------|------|--------------------|------|--------------------|------|--------------------|------|--------------------|------|
|                                               | HU 200<br>+ CU 0,25 | n %  | HU 200<br>+ CU 0,5 | n %  | HU 300<br>+ CU 0,25 | n %  | HU 300<br>+ CU 0,5 | n %  | HU 300<br>+ CU 1,0 | n %  | HU 350<br>+ CU 0,5 | n %  | HU 350<br>+ CU 1,0 | n %  |
| 1. Anzahl der Feten                           | 15                  |      | 34                 |      | 69                  |      | 142                |      | 125                |      | 129                |      | 109                |      |
| 2. nicht O.B.                                 | 2                   | 13,3 | 7                  | 20,6 | 46                  | 66,7 | 97                 | 68,3 | 105                | 84,0 | 116                | 98,9 | 108                | 99,1 |
| 3. Feten m. Malform. minor                    | 1                   | 6,7  | 0                  | 0    | 14                  | 20,3 | 54                 | 38,0 | 70                 | 56,0 | 107                | 82,9 | 103                | 94,5 |
| 4. Malform. minor - Schädel                   | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 0                   | 0    | 39                 | 27,5 | 57                 | 45,6 | 90                 | 79,8 | 76                 | 69,7 |
| a. Os Zygomat. verw. eins.                    | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 0                   | 0    | 17                 | 12,0 | 37                 | 29,6 | 31                 | 24,0 | 18                 | 16,5 |
| b. Os Zygomat. verw. bds.                     | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 0                   | 0    | 22                 | 15,5 | 20                 | 16,0 | 59                 | 45,7 | 58                 | 53,2 |
| c. zusätzl. O.Z. über<br>Os nasale *          | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 2                  | 1,6  | 0                  | 0    | 3                  | 2,7  |
| 5. Malform. minor - Sternum                   | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 5                   | 7,2  | 6                  | 4,2  | 6                  | 4,8  | 8                  | 6,2  | 16                 | 14,7 |
| a. 2 O.Z. verwachsen                          | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 1                   | 1,4  | 3                  | 2,1  | 3                  | 2,4  | 5                  | 3,9  | 10                 | 9,2  |
| b. > 2 O.Z. verwachsen                        | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 2                   | 2,9  | 0                  | 0    | 0                  | 0    | 0                  | 0    | 3                  | 2,7  |
| c. Sternum gespalten                          | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 2                   | 2,9  | 3                  | 2,1  | 3                  | 2,4  | 3                  | 2,3  | 1                  | 0,9  |
| d. Sternum irreg. verkn.                      | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 1                   | 1,4  | 0                  | 0    | 0                  | 0    | 0                  | 0    | 3                  | 2,7  |
| 6. Malform. minor - Wirbel-<br>säule          | 1                   | 6,7  | 0                  | 0    | 10                  | 14,5 | 23                 | 16,2 | 28                 | 22,4 | 65                 | 50,4 | 95                 | 87,2 |
| a. 1 - 2 O.Z. betr.                           | 1                   | 6,7  | 0                  | 0    | 9                   | 13,0 | 17                 | 12,0 | 25                 | 20,0 | 46                 | 35,7 | 38                 | 34,9 |
| b. > 2 O.Z. betr.                             | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 1                   | 1,4  | 6                  | 4,2  | 3                  | 2,4  | 19                 | 14,7 | 57                 | 52,3 |
| c. ventrale O.Z. trom-<br>meischlegelf. asym. | 1                   | 6,7  | 0                  | 0    | 10                  | 14,5 | 22                 | 15,5 | 28                 | 22,4 | 59                 | 45,7 | 93                 | 85,3 |
| d. 2 ventrale O.Z. asym.                      | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 2                  | 1,6  | 10                 | 7,7  | 17                 | 15,6 |
| e. ventrale O.Z. fehlen<br>(BWS/LWS/KWS)      | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 0                   | 0    | 2                  | 1,4  | 2                  | 1,6  | 5                  | 3,9  | 19                 | 17,4 |
| f. laterale O.Z. fehlen                       | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 0                  | 0    | 0                  | 0    | 2                  | 1,8  |
| g. Atlas gespalten                            | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 0                  | 0    | 0                  | 0    | 1                  | 0,9  |

\* ist in der Summe der Feten mit Malformationen minor nicht enthalten.



Am Schädel handelt es sich vor allem um verwachsene Ossa Zygomatica, siehe Abb. 5 im Anhang, am Sternum um verwachsene und gespaltene Ossifikationszentren (siehe Abb. 7, 9, 10 und 12 im Anhang), an der Wirbelsäule um asymmetrisch trommelschlegelförmige bzw. zwei asymmetrische ventrale Ossifikationszentren und fehlende ventrale Ossifikationszentren in BWS, LWS oder KWS (siehe Abb. 13 im Anhang). An den Extremitäten traten nur vereinzelt geringgradige Mißbildungen auf, und zwar Verkürzungen der langen Röhrenknochen.

Im folgenden ist der Vergleich der Kombinationsdosen mit den jeweiligen Einzeldosen und die statistische Auswertung für die wesentlich betroffenen Körperregionen bzw. bestimmte geringgradige Mißbildungen tabellarisch dargestellt.

Tabelle 11. C

Malformationen minor - Vergleich der Ergebnisse der Versuche  
mit den Kombinationsdosierungen mit den Ergebnissen  
bei den jeweiligen Einzeldosierungen

| Kombinations-<br>dosen:                                     | HU 300 +<br>CU 0,25 | HU 300 +<br>CU 0,5 | HU 300 +<br>CU 1,0 | HU 350 +<br>CU 0,5 | HU 350 +<br>CU 1,0 |
|-------------------------------------------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Vergleich                                                   | HU                  | CU                 | HU                 | CU                 | CU                 |
| Feten mit<br>Malform. minor $\chi^2$                        | ↓ * ↓<br>4,07       | ↑ * ∅<br>0,15      | ↑ * ↓ ↓<br>10,77   | ↑ * ↓ ↓<br>13,13   | ↑ * ↓ ↓<br>33,19   |
| Malform. minor -<br>Schädel $\chi^1$                        | ↓ * ↓ ↓<br>10,81    | ↑ * ∅<br>2,73      | ↑ * ↓ ↓<br>12,55   | ↑ * ↓ ↓<br>35,04   | ↑ * ↓ ↓<br>32,07   |
| Malform. minor -<br>Sternum $\chi^2$                        | ↑ * ∅<br>0,62       | ↑ * ∅<br>0,00      | ↑ * ∅<br>0,02      | ↑ * ∅<br>0,00      | ↑ * ↓<br>4,27      |
| Malform. minor -<br>Wirbelsäule $\chi^2$                    | ↓ * ↓<br>4,20       | ↑ * ↓<br>5,38      | ↓ * ∅<br>0,96      | ↑ * ∅<br>0,69      | ↑ * ↓ ↓<br>43,11   |
| ventrale O.Z.<br>trommelschlegel-<br>förmig, asym. $\chi^2$ | ↓ * ∅<br>2,33       | ↑ * ∅<br>3,22      | ↓ * ∅<br>0,96      | ↑ * ∅<br>0,46      | ↑ * ↓ ↓<br>45,27   |

$\chi^1$  = Os Zygomaticum verwaschen einseitig bzw. beidseits.

Die Zahlen geben die  $\chi^2$ -werte an;  $\chi^2 > 3,8$  = signifikant;  $\chi^2 > 6,6$  = hoch signifikant. Die Angaben beziehen sich auf die Daten in den Tabellen 11 A und 11 B. ↓ / ↑ / = bedeutet: der entsprechende Parameter liegt bei der Kombination geringer/höher/etwa gleich wie in der Einzeldosis. Die Einzeldosis mit dem höheren Effekt ist mit \* markiert. ∅: nicht signifikant; ↓: signifikant; ↓↓: hoch signifikant.

Am Schädel sind bei der Kombination mit 350 mg/kg HU die Ossa Zygomatica meist beidseits verwachsen, an der Wirbelsäule haben bei der höchsten Kombinationsdosis (350 mg/kg HU + 1,0 mg/kg CU) über 50% der Feten Malformationen minor an mehr als zwei Ossifikationszentren. Die nach Kombination vermehrt auftretenden verwachsenen Ossa Zygomatica sind Mißbildungen, die bei der Einzeldosierung auch nach Gabe von Cumorit<sup>®</sup> auftraten, ebenso die geringgradigen Mißbildungen am Sternum. Hingegen sind die Mißbildungen an der Wirbelsäule fast ausschließlich nach Gabe von Hydroxyharnstoff aufgetreten.

Der synergistische, fast additive Effekt der beiden Bestandteile der Kombination, wie er sich in Bezug auf die geringgradigen Mißbildungen insgesamt nach Gabe von 300 mg/kg HU + 1,0 mg/kg CU und 350 mg/kg HU + 0,5 mg bzw. 1,0 mg/kg CU zeigt, ist vor allem ein Resultat des gehäuften Auftretens von verwachsenen Ossa Zygomatica. Erst bei der höchsten Kombination, 350 mg/kg HU + 1,0 mg/kg CU, fallen die vermehrt auftretenden verwachsenen und gespaltenen sternalen Ossifikationszentren und die asymmetrisch angelegten bzw. fehlenden ventralen Ossifikationszentren der Wirbelsäule ins Gewicht.

#### 4.3.5. Schwere Mißbildungen (Malformationen major)

Auch in Bezug auf die schwerwiegenden Mißbildungen zeigt sich ein synergistischer Effekt durch die Kombination des in dieser Hinsicht stärker wirkenden Pharmakons Hydroxyharnstoff mit dem Östrogen/Gestagen-Präparat Cumorit<sup>®</sup>. Allerdings war dieser Anstieg des Effektes nur in der niedrigen Kombination 300 mg/kg HU + 0,25 mg/kg CU und in der hohen Kombination 350 mg/kg HU + 1,0 mg/kg CU signifikant bzw. hoch signifikant. Die folgende Tabelle 12 gibt für die Kombination und deren Einzeldosierungen an, wieviel Feten in den einzelnen Körperregionen, an denen wir "Malformationen major" beobachteten, davon betroffen waren.

Tabelle 12 A  
Einzeldosen

## MALFORMATIONEN MAJOR IN DEN EINZELNEN KÖRPERREGIONEN

| Pharmakon/Dosis (mg/kg):        | Z   |      | A         |        | B      |        | C      |     | D    |         | E      |        | F   |      |
|---------------------------------|-----|------|-----------|--------|--------|--------|--------|-----|------|---------|--------|--------|-----|------|
|                                 | n   | %    | Controlle | HU 200 | HU 300 | HU 350 | HU 350 | n   | %    | CU 0,25 | CU 0,5 | CU 1,0 | n   | %    |
| 1. Anzahl der Feten             | 777 |      |           |        |        |        |        |     |      |         |        |        |     |      |
| 2. O.B.                         | 534 | 68,7 | 95        | 69,5   | 137    | 111    | 16,2   | 109 | 52,3 | 221     | 43,0   | 144    | 47  | 32,6 |
| 3. nicht O.B.                   | 243 | 31,3 | 29        | 30,5   | 97     | 93     | 83,8   | 52  | 47,7 | 126     | 57,0   | 97     | 15  | 67,4 |
| 4. Feten m. Malform. major      | 5   | 0,6  | 1         | 1,0    | 6      | 24     | 21,6   | 1   | 0,9  | 18      | 8,1    | 15     | 1   | 10,4 |
| 5. Malform. major - Schädel     | 0   | 0    | 0         | 0      | 0      | 7      | 6,3    | 0   | 0    | 0       | 0      | 1      | 0,7 | 0,7  |
| 6. Malform. major - Wirbelsäule | 1   | 0,1  | 0         | 0      | 4      | 21     | 18,9   | 0   | 0    | 1       | 0,4    | 0      | 0   | 0    |
| a. 1 - 2 O.Z. betr.             | 1   | 0,1  | 0         | 0      | 4      | 2,9    | 9      | 8,1 | 0    | 1       | 0,4    | 0      | 0   | 0    |
| b. > 2 O.Z. betr.               | 0   | 0    | 0         | 0      | 0      | 12     | 10,8   | 0   | 0    | 0       | 0      | 0      | 0   | 0    |
| 7. Malform. major - Schwanz     | 2   | 0,3  | 1         | 1,0    | 4      | 2,9    | 6      | 5,4 | 0    | 0       | 0      | 4      | 2,8 | 2,8  |
| 8. Malform. major - Becken      | 0   | 0    | 0         | 0      | 0      | 0      | 0      | 0   | 0    | 0       | 0      | 0      | 0   | 0    |
| 9. Malform. major - Extrem.     | 2   | 0,3  | 0         | 0      | 0      | 3      | 2,7    | 1   | 0,9  | 17      | 7,7    | 10     | 6,9 | 6,9  |
| a. vordere Extr. betr.          | 1   | 0,1  | 0         | 0      | 0      | 0      | 0      | 1   | 0,9  | 17      | 7,7    | 9      | 6,2 | 6,2  |
| b. hintere Extr. betr.          | 1   | 0,1  | 0         | 0      | 0      | 3      | 2,7    | 0   | 0    | 0       | 0      | 1      | 0,7 | 0,7  |

Tabelle 12 B.  
Kombinationen

## MALFORMATIONEN MAJOR IN DEN EINZELNEN KÖRPERREGIONEN

| Pharmakon/Dosis (mg/kg):             | G  |      | H  |      | I  |      | J   |      | K   |      | L   |      | M   |      |
|--------------------------------------|----|------|----|------|----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|
|                                      | n  | %    | n  | %    | n  | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    |
| 1. Anzahl der Feten                  | 15 |      | 34 |      | 69 |      | 142 |      | 125 |      | 129 |      | 109 |      |
| 2. O.B.                              | 13 | 86,7 | 27 | 79,4 | 23 | 33,3 | 45  | 31,7 | 20  | 16,0 | 13  | 10,1 | 1   | 0,9  |
| 3. nicht O.B.                        | 2  | 13,3 | 7  | 20,6 | 46 | 66,7 | 97  | 68,3 | 105 | 84,0 | 116 | 98,9 | 108 | 99,1 |
| 4. Feten m. Malform. major           | 0  | 0    | 0  | 0    | 11 | 15,9 | 17  | 12,0 | 22  | 17,6 | 36  | 27,9 | 71  | 65,1 |
| 5. Malform. major - Schädel          | 0  | 0    | 0  | 0    | 2  | 2,9  | 2   | 1,4  | 2   | 1,6  | 8   | 6,2  | 19  | 17,4 |
| 6. Malform. major - Wirbel-<br>säule | 0  | 0    | 0  | 0    | 4  | 5,8  | 4   | 2,8  | 5   | 4,0  | 29  | 22,5 | 55  | 50,5 |
| a. 1 - 2 O.Z. betr.                  | 0  | 0    | 0  | 0    | 1  | 1,4  | 3   | 2,1  | 3   | 2,4  | 14  | 10,8 | 22  | 20,2 |
| b. > 2 O.Z. betr.                    | 0  | 0    | 0  | 0    | 3  | 4,3  | 1   | 0,7  | 2   | 1,6  | 15  | 11,6 | 33  | 30,3 |
| 7. Malform. major - Schwanz          | 0  | 0    | 0  | 0    | 7  | 10,1 | 5   | 3,5  | 4   | 3,2  | 24  | 18,6 | 43  | 39,4 |
| 8. Malform. major - Becken           | 0  | 0    | 0  | 0    | 0  | 0    | 0   | 0    | 1   | 0,8  | 0   | 0    | 1   | 0,9  |
| 9. Malform. major - Extrem.          | 0  | 0    | 0  | 0    | 1  | 1,4  | 9   | 6,3  | 15  | 12,0 | 3   | 2,3  | 13  | 11,9 |
| a. vordere Extr. betr.               | 0  | 0    | 0  | 0    | 1  | 1,4  | 7   | 4,9  | 15  | 12,0 | 2   | 1,5  | 10  | 9,2  |
| b. hintere Extr. betr.               | 0  | 0    | 0  | 0    | 0  | 0    | 5   | 3,5  | 0   | 0    | 2   | 1,5  | 3   | 2,7  |

Wie die Tabelle 12 zeigt, treten die Mißbildungen nach Gabe der Medikamentenkombination, vor allem am Schädel und Achsenskelett (Wirbelsäule und Schwanz) auf. An den Extremitäten wurden die Mißbildungen, die nach Gabe der Cumorit<sup>®</sup>-Einzeldosierungen häufiger als bei den Kontrolltieren gesehen wurde, durch die zusätzliche Gabe von Hydroxyharnstoff nicht wesentlich variiert ( $\chi^2$  I: D in Tabelle 12 = 0,16 = nicht signifikant;  $\chi^2$  J: E = 0,08 = nicht signifikant;  $\chi^2$  K: F = 1,47 = nicht signifikant;  $\chi^2$  L: E = 3,41 = nicht signifikant;  $\chi^2$  M: F = 1,31 = nicht signifikant). Wie die Tabelle 13 A und B unten zeigt, handelt es sich bei den Malformationen major, die nach Gabe von Cumorit<sup>®</sup> allein bzw. in Kombination mit Hydroxyharnstoff auftraten, vor allem um Verbiegungen an den vorderen Extremitäten. Es handelt sich um Verbiegungen von Scapula, Humerus, Radius und Ulna, ein Effekt der bei der Dosierung von 1,5 mg/kg CU in ca. 30% der Fälle vorhanden war (TIEMANN, 20) und der häufig mit poröser Knochenstruktur an dieser Stelle vergesellschaftet war. Die Abbildungen 15 und 17 im Anhang zeigen Feten, deren Mütter mit Cumorit<sup>®</sup> in Kombination mit Hydroxyharnstoff behandelt waren, mit dieser Mißbildung. Diese Art von poröser Knochenstruktur ist nach Gabe von Hydroxyharnstoff allein auch bei hohen Dosen nie beobachtet worden. Es handelt sich somit um einen für Cumorit<sup>®</sup>-spezifischen Effekt, der, wie es die Kombinationsversuche zeigen, durch die zusätzliche Gabe von Hydroxyharnstoff nicht beeinflusst wird.

Die folgende Tabelle 13 A/B zeigt die schweren Mißbildungen im einzelnen auf, wie sie nach Gabe der Kombination von Hydroxyharnstoff und Cumorit<sup>®</sup> und den entsprechenden Einzeldosen beobachtet wurden.

Um wiederum den Vergleich der Kombinationsversuche mit den Einzeldosierungsversuchen übersichtlicher zu gestalten, ist dies für die wesentlich betroffenen Körperregionen und exemplarisch für einzelne Mißbildungen tabellarisch gestaltet (Tabelle 14 im Anschluß).

Tabelle 13 A

Einzeldosen

## MALFORMATIONEN MAJOR IM EINZELNEN

| Pharmakon/Dosis (mg/kg):             | Z<br>Kontrolle | A      |     | B      |     | C      |     | D       |     | E      |     | F      |     |
|--------------------------------------|----------------|--------|-----|--------|-----|--------|-----|---------|-----|--------|-----|--------|-----|
|                                      |                | HU 200 | n % | HU 300 | n % | HU 350 | n % | CU 0,25 | n % | CU 0,5 | n % | CU 1,0 | n % |
| 1. Anzahl der Feten                  | 777            | 95     |     | 137    |     | 111    |     | 109     |     | 221    |     | 144    |     |
| 2. nicht O.B.                        | 243            | 31,3   |     | 30,5   |     | 93     |     | 52      |     | 126    |     | 97     |     |
| 3. Feten m. Malform. major           | 5              | 0,6    |     | 1,0    |     | 24     |     | 1       |     | 18     |     | 15     |     |
| 4. Malform. major - Schädel          | 0              | 0      |     | 0      |     | 7      |     | 0       |     | 0      |     | 1      |     |
| a. Hirnschädel sehr rund             | 0              | 0      |     | 0      |     | 0      |     | 0       |     | 0      |     | 0      |     |
| b. Nase kurz                         | 0              | 0      |     | 0      |     | 1      |     | 0       |     | 0      |     | 1      |     |
| c. Unterlippe gespalten              | 0              | 0      |     | 0      |     | 0      |     | 0       |     | 0      |     | 0      |     |
| d. Gaumenspalte                      | 0              | 0      |     | 0      |     | 0      |     | 0       |     | 0      |     | 0      |     |
| e. Schädeln. irreg. verw.            | 0              | 0      |     | 0      |     | 0      |     | 0       |     | 0      |     | 0      |     |
| f. Os tympan. fehlt eins.            | 0              | 0      |     | 0      |     | 6      |     | 0       |     | 0      |     | 0      |     |
| g. Os tympan. fehlt bds.             | 0              | 0      |     | 0      |     | 0      |     | 0       |     | 0      |     | 0      |     |
| 5. Malform. major - Wirbel-<br>säule | 1              | 0,1    |     | 0      |     | 21     |     | 0       |     | 1      |     | 0      |     |
| a. 1 - 2 O.Z. betr.                  | 1              | 0,1    |     | 0      |     | 9      |     | 0       |     | 1      |     | 0      |     |
| b. > 2 O.Z. betr.                    | 0              | 0      |     | 0      |     | 12     |     | 0       |     | 0      |     | 0      |     |
| c. irreg. O.Z.                       | 1              | 0,1    |     | 0      |     | 19     |     | 0       |     | 1      |     | 0      |     |
| d. ventrale O.Z. verschm.            | 0              | 0      |     | 0      |     | 6      |     | 0       |     | 0      |     | 0      |     |
| e. laterale O.Z. verschm.            | 0              | 0      |     | 1      |     | 12     |     | 0       |     | 0      |     | 0      |     |
| f. O.Z. lat./ventr. verschm.         | 0              | 0      |     | 1      |     | 5      |     | 0       |     | 0      |     | 0      |     |
| g. Kreuzbein regellos                | 0              | 0      |     | 0      |     | 0      |     | 0       |     | 0      |     | 0      |     |
| 6. Malform. major - Schwanz          | 2              | 0,3    |     | 1,0    |     | 6      |     | 0       |     | 0      |     | 4      |     |
| a. Schwanz fehlt                     | 0              | 0      |     | 0      |     | 2      |     | 0       |     | 0      |     | 0      |     |
| b. Schwanz kurz                      | 0              | 0      |     | 0      |     | 3      |     | 0       |     | 0      |     | 1      |     |
| c. Schwanz geknickt                  | 2              | 0,3    |     | 1,0    |     | 5      |     | 0       |     | 0      |     | 4      |     |

Tabelle 13 A Fortsetzung:  
Einzeldosen

| MALFORMATIONEN MAJOR IM EINZELNEN   |                |        |     |        |     |        |     |         |     |        |     |        |     |
|-------------------------------------|----------------|--------|-----|--------|-----|--------|-----|---------|-----|--------|-----|--------|-----|
| Pharmakon/Dosis (mg/kg):            | Z<br>Kontrolle | A      |     | B      |     | C      |     | D       |     | E      |     | F      |     |
|                                     |                | HU 200 | n % | HU 300 | n % | HU 350 | n % | CU 0,25 | n % | CU 0,5 | n % | CU 1,0 | n % |
| 1. Anzahl der Feten                 | 777            | 95     |     | 137    |     | 111    |     | 109     |     | 221    |     | 144    |     |
| 7. Malform. major - <u>Extrem.</u>  | 2              | 0,3    | 0   | 0      | 0   | 3      | 2,7 | 1       | 0,9 | 17     | 7,7 | 10     | 6,9 |
| 7.1. vordere Extr. betr.            | 1              | 0,1    | 0   | 0      | 0   | 0      | 0   | 1       | 0,9 | 17     | 7,7 | 9      | 6,2 |
| a. Scapula verbg. eins.             | 1              | 0,1    | 0   | 0      | 0   | 0      | 0   | 0       | 0   | 2      | 0,9 | 1      | 0,7 |
| b. Scapula verbg. bds.              | 0              | 0      | 0   | 0      | 0   | 0      | 0   | 1       | 0,9 | 11     | 5,0 | 4      | 2,8 |
| c. Humerus verbg. eins.             | 1              | 0,1    | 0   | 0      | 0   | 0      | 0   | 0       | 0   | 3      | 1,4 | 1      | 0,7 |
| d. Humerus verbg. bds.              | 0              | 0      | 0   | 0      | 0   | 0      | 0   | 0       | 0   | 9      | 4,1 | 3      | 2,1 |
| e. Radius-Ulna verbg. eins.         | 0              | 0      | 0   | 0      | 0   | 0      | 0   | 0       | 0   | 4      | 1,8 | 3      | 2,1 |
| f. Radius-Ulna verbg. bds.          | 0              | 0      | 0   | 0      | 0   | 0      | 0   | 0       | 0   | 7      | 3,2 | 1      | 0,7 |
| g. Radius fehlt eins.               | 0              | 0      | 0   | 0      | 0   | 0      | 0   | 0       | 0   | 0      | 0   | 1      | 0,7 |
| h. Radius fehlt bds.                | 0              | 0      | 0   | 0      | 0   | 0      | 0   | 0       | 0   | 0      | 0   | 0      | 0   |
| j. irreg. Stellung der Vorderpfoten | 0              | 0      | 0   | 0      | 0   | 0      | 0   | 0       | 0   | 5      | 2,3 | 2      | 1,4 |
| 7.2. hintere Extrem. betr.          | 1              | 0,1    | 0   | 0      | 0   | 3      | 2,7 | 0       | 0   | 0      | 0   | 1      | 0,7 |
| a. Femur geknickt eins.             | 0              | 0      | 0   | 0      | 0   | 0      | 0   | 0       | 0   | 0      | 0   | 0      | 0   |
| b. Femur geknickt bds.              | 0              | 0      | 0   | 0      | 0   | 0      | 0   | 0       | 0   | 0      | 0   | 0      | 0   |
| c. Tibia fehlt eins./bds.           | 0              | 0      | 0   | 0      | 0   | 0      | 0   | 0       | 0   | 0      | 0   | 0      | 0   |
| c. Tibia - Fibula geknickt eins.    | 0              | 0      | 0   | 0      | 0   | 0      | 0   | 0       | 0   | 0      | 0   | 1      | 0,7 |
| d. Tibia - Fibula geknickt bds.     | 0              | 0      | 0   | 0      | 0   | 1      | 0,9 | 0       | 0   | 0      | 0   | 0      | 0   |
| e. < 3 Metatarsalia eins.           | 0              | 0      | 0   | 0      | 0   | 1      | 0,9 | 0       | 0   | 0      | 0   | 0      | 0   |
| f. < 3 Metatarsalle bds.            | 0              | 0      | 0   | 0      | 0   | 0      | 0   | 0       | 0   | 0      | 0   | 0      | 0   |
| g. Oligodactylie eins. *            | 0              | 0      | 0   | 0      | 0   | 1      | 0,9 | 0       | 0   | 0      | 0   | 0      | 0   |
| h. Oligodactylie bds. *             | 0              | 0      | 0   | 0      | 0   | 0      | 0   | 0       | 0   | 0      | 0   | 0      | 0   |
| i. irreg. Stellung der Hinterpfoten | 1              | 0,1    | 0   | 0      | 0   | 3      | 2,7 | 0       | 0   | 0      | 0   | 0      | 0   |

\* < 3 Phalangen vorhanden, ist in Gesamtsumme nicht enthalten.

Tabelle 13 B  
Kombinationen

MALFORMATIONEN MAJOR IM EINZELNEN

| Pharmakon/Dosis (mg/kg):               | G  |      | H  |      | I  |      | J   |      | K   |      | L   |      | M   |      |
|----------------------------------------|----|------|----|------|----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|
|                                        | n  | %    | n  | %    | n  | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    |
| 1. Anzahl der Feten                    | 15 |      | 34 |      | 69 |      | 142 |      | 125 |      | 129 |      | 109 |      |
| 2. nicht O.B.                          | 2  | 13,3 | 7  | 20,6 | 46 | 66,7 | 97  | 68,3 | 105 | 84,0 | 116 | 98,9 | 108 | 99,1 |
| 3. Feten m. Malform.-major             | 0  | 0    | 0  | 0    | 11 | 15,9 | 17  | 12,0 | 22  | 17,6 | 36  | 27,9 | 71  | 65,1 |
| 4. Malform.-major - <u>Schädel</u>     | 0  | 0    | 0  | 0    | 2  | 2,9  | 2   | 1,4  | 2   | 1,6  | 8   | 6,2  | 19  | 17,4 |
| a. Hirnschädel sehr rund               | 0  | 0    | 0  | 0    | 0  | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 1   | 0,8  | 1   | 0,9  |
| b. Nase kurz                           | 0  | 0    | 0  | 0    | 0  | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
| c. Unterlippe gespalten                | 0  | 0    | 0  | 0    | 0  | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
| d. Gaumenspalte                        | 0  | 0    | 0  | 0    | 0  | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 1   | 0,9  |
| e. Schädeln. irreg. verw.              | 0  | 0    | 0  | 0    | 0  | 0    | 0   | 0    | 1   | 0,8  | 2   | 1,5  | 2   | 1,8  |
| f. Os tympan. fehlt eins.              | 0  | 0    | 0  | 0    | 2  | 2,9  | 1   | 0,7  | 1   | 0,8  | 4   | 3,1  | 11  | 10,1 |
| g. Os tympan. fehlt bds.               | 0  | 0    | 0  | 0    | 0  | 0    | 1   | 0,7  | 1   | 0,8  | 2   | 1,5  | 6   | 5,5  |
| 5. Malform.-major - <u>Wirbelsäule</u> | 0  | 0    | 0  | 0    | 4  | 5,8  | 4   | 2,8  | 5   | 4,0  | 29  | 22,5 | 55  | 50,5 |
| a. 1 - 2 O.Z. betr.                    | 0  | 0    | 0  | 0    | 1  | 1,4  | 3   | 2,1  | 3   | 2,4  | 14  | 10,8 | 22  | 20,2 |
| b. > 2 O.Z. betr.                      | 0  | 0    | 0  | 0    | 3  | 4,3  | 1   | 0,7  | 2   | 1,6  | 15  | 11,6 | 33  | 30,3 |
| c. irreg. O.Z.                         | 0  | 0    | 0  | 0    | 0  | 0    | 3   | 2,1  | 5   | 4,0  | 22  | 17,0 | 47  | 43,1 |
| d. ventrale O.Z. verschm.              | 0  | 0    | 0  | 0    | 0  | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 4   | 3,1  | 11  | 10,1 |
| e. laterale O.Z. verschm.              | 0  | 0    | 0  | 0    | 0  | 0    | 2   | 1,4  | 2   | 1,6  | 15  | 11,6 | 23  | 21,1 |
| f. O.Z. lat./vent. verschm.            | 0  | 0    | 0  | 0    | 1  | 1,4  | 1   | 0,7  | 1   | 0,8  | 5   | 3,9  | 8   | 7,3  |
| g. Kreuzbein regellos                  | 0  | 0    | 0  | 0    | 3  | 4,3  | 0   | 0    | 0   | 0    | 2   | 1,5  | 7   | 6,4  |
| 6. Malform.-major - <u>Schwanz</u>     | 0  | 0    | 0  | 0    | 7  | 10,1 | 5   | 3,5  | 4   | 3,2  | 24  | 18,6 | 43  | 39,4 |
| a. Schwanz fehlt                       | 0  | 0    | 0  | 0    | 0  | 0    | 1   | 0,7  | 1   | 0,8  | 2   | 1,5  | 13  | 11,9 |
| b. Schwanz kurz                        | 0  | 0    | 0  | 0    | 1  | 1,4  | 2   | 1,4  | 1   | 0,8  | 21  | 16,3 | 24  | 22,0 |
| c. Schwanz geknickt                    | 0  | 0    | 0  | 0    | 6  | 8,7  | 3   | 2,1  | 3   | 2,4  | 12  | 9,3  | 18  | 16,5 |

Tabelle 13 B Fortsetzung:

Kombinationen

## MALFORMATIONEN MAJOR IM EINZELNEN

| Pharmakon/Dosis (mg/kg):            | G  |   | H  |   | I  |     | J   |     | K   |      | L   |     | M   |      |
|-------------------------------------|----|---|----|---|----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|------|
|                                     | n  | % | n  | % | n  | %   | n   | %   | n   | %    | n   | %   | n   | %    |
|                                     | 15 |   | 34 |   | 69 |     | 142 |     | 125 |      | 129 |     | 109 |      |
| 1. Anzahl der Feten                 | 0  | 0 | 0  | 0 | 1  | 1,4 | 9   | 6,3 | 15  | 12,0 | 3   | 2,3 | 13  | 11,9 |
| 7. Malform. major - Extrem.         | 0  | 0 | 0  | 0 | 1  | 1,4 | 7   | 4,9 | 15  | 12,0 | 2   | 1,5 | 10  | 9,2  |
| 7.1. vordere Extr. betr.            | 0  | 0 | 0  | 0 | 0  | 0   | 1   | 0,7 | 0   | 0    | 0   | 0   | 1   | 0,9  |
| a. Scapula verbg. eins.             | 0  | 0 | 0  | 0 | 0  | 0   | 2   | 1,4 | 3   | 2,4  | 2   | 1,5 | 5   | 4,6  |
| b. Scapula verbg. bds.              | 0  | 0 | 0  | 0 | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0    | 0   | 0   | 1   | 0,9  |
| c. Humerus verbg. eins.             | 0  | 0 | 0  | 0 | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0    | 0   | 0   | 1   | 0,9  |
| d. Humerus verbg. bds.              | 0  | 0 | 0  | 0 | 0  | 0   | 2   | 1,4 | 0   | 0    | 1   | 0,8 | 1   | 0,9  |
| e. Radius-Ulna verbg. eins.         | 0  | 0 | 0  | 0 | 1  | 1,4 | 3   | 2,1 | 4   | 3,2  | 1   | 0,8 | 3   | 2,7  |
| f. Radius-Ulna verbg. bds.          | 0  | 0 | 0  | 0 | 0  | 0   | 3   | 2,1 | 7   | 5,6  | 1   | 0,8 | 5   | 4,6  |
| g. Radius fehlt eins.               | 0  | 0 | 0  | 0 | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0    | 0   | 0   | 0   | 0    |
| h. Radius fehlt bds.                | 0  | 0 | 0  | 0 | 0  | 0   | 0   | 0   | 1   | 0,8  | 0   | 0   | 0   | 0    |
| j. irreg. Stellung der Vorderpfoten | 0  | 0 | 0  | 0 | 0  | 0   | 2   | 1,4 | 0   | 0    | 0   | 0   | 5   | 4,6  |
| 7.2. hintere Extrem. betr.          | 0  | 0 | 0  | 0 | 0  | 0   | 5   | 3,5 | 0   | 0    | 2   | 1,5 | 3   | 2,7  |
| a. Femur geknickt betr.             | 0  | 0 | 0  | 0 | 0  | 0   | 1   | 0,7 | 0   | 0    | 0   | 0   | 0   | 0    |
| b. Femur geknickt eins.             | 0  | 0 | 0  | 0 | 0  | 0   | 2   | 1,4 | 0   | 0    | 1   | 0,8 | 0   | 0    |
| c. Tibia fehlt eins.                | 0  | 0 | 0  | 0 | 0  | 0   | 1   | 0,7 | 0   | 0    | 1   | 0,8 | 2   | 2,1  |
| d. Tibia fehlt bds.                 | 0  | 0 | 0  | 0 | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0    | 0   | 0   | 0   | 0    |
| e. Tibia - Fibula geknickt eins.    | 0  | 0 | 0  | 0 | 0  | 0   | 1   | 0,7 | 0   | 0    | 0   | 0   | 0   | 0    |
| f. Tibia - Fibula geknickt bds.     | 0  | 0 | 0  | 0 | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0    | 0   | 0   | 0   | 0    |
| g. < 3 Metatarsalia eins.           | 0  | 0 | 0  | 0 | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0    | 0   | 0   | 0   | 0    |
| h. < 3 Metatarsalie bds.            | 0  | 0 | 0  | 0 | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0    | 0   | 0   | 0   | 0    |
| i. Oligodactylie eins. *            | 0  | 0 | 0  | 0 | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0    | 0   | 0   | 0   | 0    |
| j. Oligodactylie bds. *             | 0  | 0 | 0  | 0 | 0  | 0   | 0   | 0   | 0   | 0    | 0   | 0   | 0   | 0    |
| k. irreg. Stellung der Hinterpfoten | 0  | 0 | 0  | 0 | 0  | 0   | 2   | 1,4 | 0   | 0    | 0   | 0   | 1   | 0,9  |

\* &lt; 3 Phalangen vorhanden, ist in Gesamtsumme nicht enthalten.

Tabelle 14

Malformationen major - Vergleich der Ergebnisse der Versuche  
mit den Kombinationsdosierungen mit den Ergebnissen  
bei den jeweiligen Einzeldosierungen

| Kombinations-<br>dosen:                  | HU 300 +<br>CU 0,25 | HU 300 +<br>CU 0,5 | HU 300 +<br>CU 1,0 | HU 350 +<br>CU 0,5 | HU 350 +<br>CU 1,0 |                  |             |
|------------------------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------------------|-------------|
| Vergleich                                | HU                  | CU                 | HU                 | CU                 | HU                 | CU               |             |
| Feten mit<br>Malform. major $\chi^2$     | † * ! !<br>6,64     | †                  | † * Ø<br>0,26      | † * Ø<br>2,34      | † * Ø<br>0,94      | † * ! !<br>40,69 |             |
| Malform. major -<br>Schädel $\chi^2$     | † Ø<br>1,50         | † Ø<br>1,12        | † Ø<br>0,47        | † * Ø<br>0,01      | = * Ø<br>0,05      | † * !<br>5,51    |             |
| Gaumen-<br>spalten $\chi^2$              | ----                | ----               | ----               | † Ø<br>0,00        | † Ø<br>0,37        | † Ø<br>0,52      | † Ø<br>0,84 |
| Os tymp. fehlt<br>eins./bds. $\chi^2$    | † Ø<br>1,56         | † Ø<br>1,12        | † Ø<br>0,47        | † Ø<br>0,60        | † * Ø<br>0,00      | † * !<br>5,06    |             |
| Malform. major -<br>wirbelsäule $\chi^2$ | † * Ø<br>0,3        | †                  | = * Ø<br>0,09      | † * Ø<br>0,02      | † * Ø<br>0,27      | † * ! !<br>22,82 |             |
| > 2 O.Z. betr. $\chi^2$                  | † Ø<br>3,39         | † Ø<br>2,25        | † Ø<br>0,00        | † Ø<br>0,60        | † * Ø<br>0,00      | † * ! !<br>11,64 |             |

Fortsetzung der Tabelle 14: siehe nächste Seite.

Tabelle 14. Fortsetzung

| Kombinations-   | HU 300 + |      | HU 300 + |    | HU 300 + |    | HU 300 + |      | HU 350 + |      | HU 350 + |     |
|-----------------|----------|------|----------|----|----------|----|----------|------|----------|------|----------|-----|
| dosen:          | CU 0,25  |      | CU 0,5   |    | CU 1,0   |    | CU 0,5   |      | CU 1,0   |      | CU 1,0   |     |
| Vergleich       | HU       | CU   | HU       | CU | HU       | CU | HU       | CU   | HU       | CU   | HU       | CU  |
| irreguläre O.Z. |          |      |          |    |          |    |          |      |          |      |          |     |
| $\chi^2$        | ↓ * Ø    | =    | ↑ * Ø    | ↑  | ↑ * Ø    | ↑  | = * Ø    | ↑    | = * Ø    | ↑    | ↑ * ! !  | ↑   |
|                 | 0,06     |      | 0,00     |    | 0,79     |    | 0,02     |      | 0,02     |      | 16,49    |     |
| laterale O.Z.   |          |      |          |    |          |    |          |      |          |      |          |     |
| verschmolzen    | ↓ * Ø    | =    | ↑ * Ø    | ↑  | ↑ * Ø    | ↑  | ↑ * Ø    | ↑    | ↑ * Ø    | ↑    | ↑ * Ø    | ↑   |
| $\chi^2$        | 0,12     |      | 0,00     |    | 0,01     |    | 0,00     |      | 0,00     |      | 3,62     |     |
| Kreuzbein       |          |      |          |    |          |    |          |      |          |      |          |     |
| regellos        | ↑ Ø      | ↑ Ø  | =        | =  | =        | =  | ↑        | ↑    | ↑        | ↑    | ↑ !      | ↑ ! |
| $\chi^2$        | 3,39     | 2,55 |          |    |          |    | 0,37     | 1,26 | 5,42     | 7,27 |          |     |
| Malform. major  | ↓ * Ø    | ↑    | ↑ * Ø    | ↑  | ↑ * Ø    | ↑  | ↑ * ! !  | ↑    | ↑ * ! !  | ↑    | ↑ * ! !  | ↑   |
| Schwanz         | $\chi^2$ | 3,42 | 0,00     |    | 0,05     |    | 8,33     |      | 34,88    |      |          |     |

Die Zahlen geben die  $\chi^2$ -Werte an;  $\chi^2 > 3,8$  = signifikant;  $\chi^2 > 6,6$  = hoch signifikant. Die Angaben beziehen sich auf die Daten in den Tabellen 13 A und 13 B. + / = bedeutet: der entsprechende Parameter liegt bei der Kombination geringer/höher/etwa gleich wie in der Einzeldosis. Die Einzeldosis mit dem höheren Effekt ist mit \* markiert. Ø: nicht signifikant; !: signifikant; !!: hoch signifikant.

Bei den schweren Mißbildungen am Schädel steigt die Rate der betroffenen Feten in fast allen Kombinationsgruppen. Signifikant ist der Unterschied gegenüber der Einzeldosis mit der stärkeren Wirkung, in diesem Fall Hydroxyharnstoff, jedoch nur bei der Dosierung 350 mg/kg HU + 1,0 mg/kg CU (hier tritt der Effekt mehr als doppelt so häufig auf wie nach Gabe von Hydroxyharnstoff allein); dem entspricht ein gegenüber den mit der Einzeldosis 350 mg/kg HU behandelten Feten signifikanter Anstieg der Feten mit einseitig oder beidseits fehlendem Os tympanicum (s.a. Abb. 18 im Anhang). Des weiteren treten bei den Dosierungen 300 mg/kg HU + 0,5 mg/kg CU und 350 mg/kg HU + 0,5 mg bzw. 1,0 mg/kg CU Gaumenspalten auf, (siehe Abb. 20 im Anhang) und in den Dosierungen 350 mg/kg HU + 0,5 bzw. 1,0 mg/kg CU runde Hirnschädel und irregulär verwachsene Schädelnähte (siehe Abb. 18 im Anhang). Sämtlich Befunde, die bei den entsprechenden Einzeldosierungen und bei den Kontrolltieren nicht anzutreffen waren und bei den Versuchen mit Hydroxyharnstoff erst ab der Dosierung 400 mg/kg, bei den Versuchen mit Cumorit<sup>®</sup> allein gar nicht (nur eine Gaumenspalte wurde bei der Dosierung 1,5 mg/kg CU beobachtet). Es handelt sich also um eine Verstärkung des teratogenen Effektes am Schädel durch die Kombination von Hydroxyharnstoff mit Cumorit<sup>®</sup>, zumindest bei der Kombination der hohen Dosen.

Ähnlich steigt auch der prozentuale Anteil der Feten, die von schweren Mißbildungen an der Wirbelsäule betroffen sind in fast allen Kombinationsdosierungen, jedoch auch wiederum erst bei der Kombination mit den höchsten - extrem embryotoxischen - Dosen (350 mg/kg HU + 1,0 mg/kg CU signifikant bzw. hoch signifikant, Anstieg auf fast die dreifache Höhe gegenüber der hier stärker wirksamen Einzeldosis HU). Dem entspricht ein signifikanter bzw. hoch signifikanter Anstieg der Anzahl von Feten mit mehr als zwei mißgebildeten Ossifikationszentren an der Wirbelsäule. Es handelt sich um einen signifikanten Anstieg von Feten mit irregulären Ossifikationszentren und regellos angelegten Kreuzbeinen, auch Verschmelzungen lateraler Ossifikationszentren, Verschmelzungen ventraler Ossifikationszentren und ventraler und lateraler Ossifikationszentren miteinander treten gehäuft auf. Siehe auch Abb. 13, 22 und 24 im Anhang.

Schwere Mißbildungen an der Wirbelsäule treten bei steigender Hydroxyharnstoff-Dosierung vermehrt auf: bei der Dosierung 550 mg/kg HU, bei bis zu 100% der Feten, bei der Behandlung mit Cumorit<sup>®</sup> allein kaum (TIE-MANN, 20). Es handelt sich somit um eine Verstärkung des teratogenen

Effektes der Hydroxyharnstoff-Dosierung von 350 mg/kg durch die zusätzliche Gabe von 1,0 mg/kg Cumorit<sup>®</sup>. Bei den Dosierungen 300 mg/kg CU + 1,0 mg/kg CU und 350 mg/kg HU + 0,5 mg/kg CU ist der Effekt vorhanden, jedoch handelt es sich nicht um einen signifikanten Unterschied.

Mißbildungen am Schwanz treten bei den hohen Dosen Hydroxyharnstoff auf (bei bis zu 95,9% der Feten bei der Dosierung 550 mg/kg HU), bei den hohen Dosen Cumorit<sup>®</sup> (1,0 mg/kg und 1,5 mg/kg CU) nur in Einzelfällen (TIEMANN, 20). Bei den Kombinationsversuchen tritt ein hoch signifikanter Anstieg der Feten mit Mißbildung am Schwanz in den Dosierungen 350 mg/kg HU + 0,5 bzw. 1,0 mg/kg CU gegenüber der jeweils stärker wirkenden Dosis Hydroxyharnstoff auf. Diese Vermehrung des Effektes durch die Gabe von Cumorit<sup>®</sup> wird in den Dosierungen 300 mg/kg HU + 0,5 bzw. 1,0 mg/kg CU bereits sichtbar, jedoch ist der Unterschied hier noch nicht signifikant. Es handelt sich um fehlende, kurze oder geknickte Caudae. Es zeigt sich also bei den hohen Kombinationsdosen eine Potenzierung des Effektes.

Zusammenfassend zu dem Effekt des Östrogen/Gestagen-Kombinations-Präparates Cumorit<sup>®</sup> in Bezug auf das Auftreten von schweren Mißbildungen bei den Feten von in der Frühschwangerschaft behandelten Müttern ist zu sagen, daß es zu Mißbildungen an den Extremitäten führt und bei einer Kombination mit Hydroxyharnstoff dessen teratogenen Effekt an Schädel, Wirbelsäule und Cauda verstärkt, und zwar bei einer Kombination von 350 mg/kg HU mit 1,0 mg/kg CU und zum Teil auch schon bei der Kombination von 350 mg/kg HU mit 0,5 mg/kg CU.

#### 4.4. Zusammenfassung der Ergebnisse der Beurteilung des

##### Skelettsystems in einer Gesamttabelle

Die folgende Tabelle (Tab. 15) wiederholt in den Zeilen 1 - 8 die teratologische Gesamtbeurteilung mit der Differenzierung der Abnormitäten in Retardierungen, Variationen, Mißbildungen, geringgradige und schwere Mißbildungen. Darüberhinaus wird festgestellt, wieviele Feten in den einzelnen Gruppen mehr als drei Mißbildungen überhaupt (dabei ist nicht differenziert ob minor oder major), jeweils mehr als drei geringgradige oder

mehr als drei schwere Mißbildungen aufweisen. Zudem ist festgestellt, wieviele Feten jeweils mehrere Klassen von Abnormitäten aufweisen.

Die Tabelle 15 zeigt, daß es sich bei dem Anstieg der Feten mit Mißbildungen durch die Kombination von Hydroxyharnstoff mit Cumorit<sup>®</sup> nicht um Einzelbefunde bei den Feten handelt, sondern daß in den Kombinationen mit den hohen Dosen an mehr Feten über drei Mißbildungen gefunden wurden, als bei den Einzeldosierungen. Dabei handelt es sich vor allem um Feten, die über drei geringgradige Mißbildungen aufwiesen. Bei den höchsten, hoch embryoletalen Dosen ist auch die Zahl von Feten mit über drei schweren Mißbildungen erhöht. Dies gilt auch für Feten, die gleichzeitig Malformationen minor und major aufweisen.

Die darauf folgende Tabelle 15 C vergleicht die Ergebnisse der Versuche mit den Kombinationsdosen mit den Ergebnissen bei den jeweiligen Einzeldosierungen tabellarisch und zeigt die statistische Auswertung mittels des Chi-Quadrat-Testes.

Tabelle 15 A  
Einzeldosen

TERATOLOGISCHE GESAMTBURTEILUNG  
AUFTEILUNG IN RETARDIERUNGEN; VARIATIONEN; MALFORMATIONEN GESAMT (= minor + major);  
MALFORMATIONEN MINOR; MALFORMATIONEN MAJOR.

| Pharmakon/Dosis (mg/kg):                         | Z   |      | A  |      | B   |      | C   |      | D   |      | E   |      | F   |      |
|--------------------------------------------------|-----|------|----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|
|                                                  | n   | %    | n  | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    |
| 1. Anzahl der Feten                              | 777 |      | 95 |      | 137 |      | 111 |      | 109 |      | 221 |      | 144 |      |
| 2. O.B.                                          | 534 | 68,7 | 66 | 69,5 | 40  | 29,2 | 18  | 16,2 | 57  | 52,3 | 95  | 43,0 | 47  | 32,6 |
| 3. nicht O.B.                                    | 243 | 31,3 | 29 | 30,5 | 97  | 70,8 | 93  | 83,8 | 52  | 47,7 | 126 | 57,0 | 97  | 67,4 |
| 4. Feten m. Retard.                              | 156 | 20,1 | 19 | 20,0 | 89  | 65,0 | 80  | 72,1 | 39  | 35,8 | 100 | 45,2 | 77  | 53,5 |
| 5. Feten m. Variat.                              | 86  | 11,1 | 9  | 9,5  | 4   | 2,9  | 3   | 2,7  | 15  | 13,8 | 49  | 22,2 | 38  | 26,4 |
| 6. Feten m. Malform. gesamt                      | 65  | 8,4  | 6  | 6,3  | 50  | 36,5 | 70  | 63,1 | 24  | 22,0 | 59  | 26,7 | 49  | 34,0 |
| 7. Malform. Minor                                | 61  | 7,8  | 5  | 5,3  | 48  | 35,0 | 68  | 61,3 | 23  | 21,1 | 55  | 24,9 | 43  | 29,9 |
| 8. Malform. Major                                | 5   | 0,6  | 1  | 1,0  | 6   | 4,4  | 24  | 21,6 | 1   | 0,9  | 18  | 8,1  | 15  | 10,4 |
| 9. > 3 Malform. Minor                            | 1   | 0,1  | 0  | 0    | 0   | 0    | 12  | 10,8 | 0   | 0    | 2   | 1,0  | 4   | 2,8  |
| 10. > 3 Malform. Major                           | 0   | 0    | 0  | 0    | 0   | 0    | 13  | 11,7 | 0   | 0    | 13  | 5,9  | 3   | 2,1  |
| 11. > 3 Malform. gesamt                          | 1   | 0,1  | 0  | 0    | 13  | 9,5  | 32  | 28,8 | 0   | 0    | 15  | 6,8  | 10  | 6,9  |
| 12. Feten m. Retard. u. mit Variat.              | 37  | 4,8  | 2  | 2,1  | 3   | 2,2  | 2   | 1,8  | 8   | 7,3  | 30  | 13,6 | 30  | 20,8 |
| 13. Feten m. Retard. u. mit Malform. gesamt      | 26  | 3,3  | 4  | 4,2  | 43  | 31,4 | 57  | 51,3 | 17  | 15,6 | 48  | 21,7 | 35  | 24,3 |
| 14. Feten m. Variat. u. mit Malform. gesamt      | 7   | 0,9  | 0  | 0    | 3   | 2,2  | 2   | 1,8  | 4   | 3,7  | 23  | 10,4 | 17  | 11,8 |
| 15. Feten m. Malform. minor u. m. Malform. major | 1   | 0,1  | 0  | 0    | 4   | 2,9  | 22  | 19,8 | 0   | 0    | 14  | 6,3  | 9   | 6,2  |
| 16. Feten m. Malform. minor u. m. Retard.        | 25  | 3,2  | 4  | 4,2  | 40  | 29,2 | 55  | 49,5 | 16  | 14,7 | 45  | 20,4 | 30  | 20,8 |
| 17. Feten m. Malform. minor u. m. Variat.        | 6   | 0,8  | 0  | 0    | 3   | 2,2  | 2   | 1,8  | 3   | 2,7  | 19  | 8,6  | 15  | 10,4 |
| 18. Feten m. Malform. major u. m. Variat.        | 1   | 0,1  | 0  | 0    | 0   | 0    | 1   | 0,9  | 1   | 0,9  | 18  | 8,1  | 9   | 6,2  |
| 19. Feten m. Malform. major u. m. Retard.        | 2   | 0,3  | 0  | 0    | 5   | 3,6  | 19  | 17,1 | 1   | 0,9  | 15  | 6,8  | 12  | 8,3  |

TERATOLOGISCHE GESAMTBEURTEILUNG  
AUFTEILUNG IN RETARDIERUNGEN; VARIATIONEN; MALFORMATIONEN GESAMT (= minor + major);  
MALFORMATIONEN MINOR; MALFORMATIONEN MAJOR.

| Pharmakon/Dosis (mg/kg):                            | G                   |      | H                  |      | I                   |      | J                  |      | K                  |      | L                  |      | M                  |      |
|-----------------------------------------------------|---------------------|------|--------------------|------|---------------------|------|--------------------|------|--------------------|------|--------------------|------|--------------------|------|
|                                                     | HU 200<br>+ CU 0,25 | n %  | HU 200<br>+ CU 0,5 | n %  | HU 300<br>+ CU 0,25 | n %  | HU 300<br>+ CU 0,5 | n %  | HU 300<br>+ CU 1,0 | n %  | HU 350<br>+ CU 0,5 | n %  | HU 350<br>+ CU 1,0 | n %  |
| 1. Anzahl der Feten                                 | 15                  |      | 34                 |      | 69                  |      | 142                |      | 125                |      | 129                |      | 109                |      |
| 2. O.B.                                             | 13                  | 86,7 | 27                 | 79,4 | 23                  | 33,3 | 45                 | 31,7 | 20                 | 16,0 | 13                 | 10,1 | 1                  | 0,9  |
| 3. nicht O.B.                                       | 2                   | 13,3 | 7                  | 20,6 | 46                  | 66,7 | 97                 | 68,3 | 105                | 84,0 | 116                | 98,9 | 108                | 99,1 |
| 4. Feten m. Retard.                                 | 2                   | 13,3 | 1                  | 2,9  | 38                  | 55,1 | 44                 | 31,0 | 91                 | 72,8 | 93                 | 72,1 | 91                 | 83,5 |
| 5. Feten m. Variat.                                 | 0                   | 0    | 6                  | 17,6 | 8                   | 11,6 | 32                 | 22,5 | 34                 | 27,2 | 7                  | 5,4  | 11                 | 10,1 |
| 6. Feten m. Malform. gesamt                         | 1                   | 6,7  | 0                  | 0    | 21                  | 30,4 | 61                 | 43,0 | 75                 | 60,0 | 109                | 84,5 | 104                | 95,4 |
| 7. Malform. Minor                                   | 1                   | 6,7  | 0                  | 0    | 14                  | 20,3 | 54                 | 38,0 | 70                 | 56,0 | 107                | 82,9 | 103                | 94,5 |
| 8. Malform. Major                                   | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 11                  | 15,9 | 17                 | 12,0 | 22                 | 17,6 | 36                 | 27,9 | 71                 | 65,1 |
| 9. > 3 Malform. Minor                               | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 2                   | 2,9  | 13                 | 9,1  | 10                 | 8,0  | 40                 | 31,0 | 64                 | 58,7 |
| 10. > 3 Malform. Major                              | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 0                   | 0    | 7                  | 4,9  | 2                  | 1,6  | 15                 | 11,6 | 36                 | 33,0 |
| 11. > 3 Malform. gesamt                             | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 5                   | 7,2  | 20                 | 14,1 | 27                 | 21,6 | 66                 | 51,2 | 90                 | 82,6 |
| 12. Feten m. Retard.<br>u. mit Variat.              | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 6                   | 8,7  | 9                  | 6,3  | 28                 | 22,4 | 6                  | 4,6  | 10                 | 9,2  |
| 13. Feten m. Retard. u.<br>mit Malform. gesamt      | 1                   | 6,7  | 0                  | 0    | 15                  | 21,7 | 26                 | 18,3 | 64                 | 51,2 | 86                 | 66,7 | 87                 | 79,8 |
| 14. Feten m. Variat. u.<br>mit Malform. gesamt      | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 5                   | 7,2  | 9                  | 6,3  | 21                 | 16,8 | 6                  | 4,6  | 10                 | 9,2  |
| 15. Feten m. Malform. minor<br>u. m. Malform. major | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 4                   | 5,8  | 10                 | 7,0  | 17                 | 13,6 | 34                 | 26,4 | 70                 | 64,2 |
| 16. Feten m. Malform.<br>minor u. m. Retard.        | 1                   | 6,7  | 0                  | 0    | 9                   | 13,0 | 25                 | 17,6 | 60                 | 48,0 | 84                 | 65,1 | 86                 | 78,9 |
| 17. Feten m. Malform.<br>minor u. m. Variat.        | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 3                   | 4,3  | 6                  | 4,2  | 19                 | 15,2 | 5                  | 3,9  | 10                 | 9,2  |
| 18. Feten m. Malform.<br>major u. m. Variat.        | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 2                   | 2,9  | 7                  | 4,9  | 11                 | 8,8  | 3                  | 2,3  | 8                  | 7,3  |
| 19. Feten m. Malform.<br>major u. m. Retard.        | 0                   | 0    | 0                  | 0    | 9                   | 13,0 | 10                 | 7,0  | 20                 | 16,0 | 31                 | 24,0 | 59                 | 54,1 |

Tabelle 15 C

Teratologische Gesamtbeurteilung - Vergleich der Ergebnisse der Versuche  
mit Kombinationsdosierungen mit den Ergebnissen bei den jeweiligen Einzeldosierungen

| Kombinations-<br>dosen:                 | HU 300 +<br>CU 0,25 | HU 300 +<br>CU 0,5 | HU 300 +<br>CU 1,0 | HU 350 +<br>CU 0,5 | HU 350 +<br>CU 1,0 |    |
|-----------------------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|----|
| Vergleich                               | HU                  | CU                 | HU                 | CU                 | HU                 | CU |
| -----                                   |                     |                    |                    |                    |                    |    |
| Feten mit (*)                           |                     |                    |                    |                    |                    |    |
| > 3 Malform. minor<br>$\chi^2$          | †                   | †                  | †                  | †                  | †                  | †  |
|                                         | 0,02                | 1,81               | 0,93               | 13,17              | 53,72              | †  |
| > 3 Malform. major<br>$\chi^2$          | =                   | †                  | †                  | †                  | †                  | †  |
|                                         |                     | 0,23               | 0,02               | 0,03               | 13,23              | †  |
| > 3 Malform. ges.<br>$\chi^2$           | †                   | †                  | †                  | †                  | †                  | †  |
|                                         | 0,08                | 1,00               | 6,50               | 11,41              | 62,14              | †  |
| Retard. +<br>Variat.                    | †                   | †                  | †                  | †                  | †                  | †  |
|                                         | 0,00                | 4,00               | 0,03               | 6,09               | 5,49               | †  |
| Malform. minor<br>+ major<br>$\chi^2$   | †                   | †                  | †                  | †                  | †                  | †  |
|                                         | 0,39                | 0,00               | 3,34               | 1,08               | 42,75              | †  |
| Ret. + Malform.<br>minor<br>$\chi^2$    | †                   | †                  | †                  | †                  | †                  | †  |
|                                         | 5,74                | 4,61               | 9,01               | 5,31               | 19,33              | †  |
| Variat. + Malform.<br>minor<br>$\chi^2$ | †                   | †                  | †                  | †                  | †                  | †  |
|                                         | 0,22                | 1,94               | 0,99               | 2,15               | 0,01               | †  |
| Variat. + Malform.<br>major<br>$\chi^2$ | †                   | †                  | †                  | †                  | †                  | †  |
|                                         | 1,62                | 0,94               | 0,31               | 3,91               | 0,01               | †  |
| Retard. + Malform.<br>major<br>$\chi^2$ | †                   | †                  | †                  | †                  | †                  | †  |
|                                         | 4,99                | 0,01               | 3,06               | 1,33               | 31,32              | †  |

(\*) beim gleichen Feten.

Die Zahlen geben die  $\chi^2$ -Werte an;  $\chi^2 > 3,8$  = signifikant;  $\chi^2 > 6,6$  = hoch signifikant. + /+/- bedeutet: der entsprechende Parameter liegt bei der Kombination geringer/höher/etwa gleich wie in der Einzeldosierung. Die Einzeldosis mit dem höheren Effekt ist mit \* markiert. Ø: nicht signifikant; !: signifikant; !!: hoch signifikant. Die Angaben beziehen sich auf die Daten in den Tabellen 15 A und 15 B.

## 5. Abschließende Diskussion der Ergebnisse

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es die embryotoxischen Wirkungen einer Kombination von Hydroxyharnstoff und Östrogen/Gestagen an Ratten zu untersuchen.

Wistar Ratten vom Stamm Bor:WISW (SPF TNO) wurde am Tag 11 der Schwangerschaft im Vorversuch 200 mg/kg HU + 0,25 bzw. 0,5 mg/kg CU und 300 mg/kg HU + 0,25 bzw. 0,5 mg/kg CU appliziert, im Hauptversuch 300 mg/kg HU + 0,5 bzw. 1,0 mg/kg CU und 350 mg/kg HU + 0,5 bzw. 1,0 mg/kg CU. Gleichzeitig wurden Tiere mit den entsprechenden Einzeldosierungen behandelt. Nach der Sectio am Tag 21 wurden die Resorptionen gezählt und die Feten gewogen und makroskopisch beurteilt. Sodann wurde nach Aufhellung und Anfärbung mit Alizarin das Skelettsystem beurteilt. Wir unterschieden dabei vier verschiedene Klassen von Skelettanomalien: Retardierungen, Variationen, geringgradige und schwere Mißbildungen.

Zusammenfassend können wir in der vorliegenden Arbeit feststellen:

- 1.) Sowohl Hydroxyharnstoff als auch das Östrogen/Gestagen-Kombinations-Präparat Cumorit<sup>®</sup> lösen einen embryoletalen Effekt aus, wenn sie schwangeren Ratten in der späten Organogenese-phase appliziert werden. Dieser Effekt steigert sich dosisabhängig, wobei er bei den gewählten Cumorit<sup>®</sup>-Dosen stärker ausgeprägt war, als bei den benutzten Hydroxyharnstoff-Dosen. Bei der kombinierten Applikation beider Pharmaka zum gleichen Zeitpunkt der Gestation (Tag 11) steigerte sich dieser Effekt in den Dosierungen 300 mg/kg HU + 1,0 mg/kg CU und 350 mg/kg HU + 0,5 bzw. 1,0 mg/kg CU gegenüber dem Effekt der jeweiligen Einzeldosierung des Präparates der Kombination mit der stärkeren Wirkung. Es handelt sich hier um einen additiven Effekt (Synergismus).
- 2.) Bei der höchsten der angewandten Cumorit<sup>®</sup>-Dosierungen in Kombination mit Hydroxyharnstoff trat ein stark ausgeprägter embryoletaler Effekt auf: von 46 behandelten Muttertieren wiesen nach 350 mg HU/kg + 1,0 mg CU/kg 50% bei der Sektio am Tag 21 der Schwangerschaft nur Resorptionen auf. Bei den restlichen Tieren waren über 50% der Feten resorbiert. Bei derartigen extrem embryoletalen Dosie-

rungen werden normalerweise keine teratologischen Auswertungen durchgeführt (NEUBERT et al., 1980, 31). Wir haben in der vorliegende Arbeit die Zahl der Muttertiere pro Dosis und die Zahl der Dosen soweit erhöht, bis alle embryotoxischen Effekte ausgewertet werden konnten, um einen Eindruck über das teratogene Potential von Cumorit<sup>®</sup> zu erhalten. Die Ergebnisse können auch als Beitrag zur Untersuchung embryotoxischer Effekte bei Extremdosen gewertet werden.

- 3.) Beide ausgewählten Pharmaka führten in Einzelgabe zu einer Wachstumsretardierung, die sich insbesondere in einer Gewichtsminderung ausdrückt, aber auch im Auftreten von bestimmten strukturellen Anomalien, die wir als Retardierungserscheinungen werteten. Auch dieser Effekt steigerte sich jeweils dosis-abhängig, wobei er bei den verwendeten Hydroxyharnstoff-Dosen insgesamt stärker ausgeprägt war, als bei den verwendeten Cumorit<sup>®</sup>-Dosen. Was die Reduktion des fetalen Gewichtes angeht, ergab sich durch die kombinierte Gabe beider Pharmaka zum gleichen Zeitpunkt der Schwangerschaft eine Verstärkung des Effektes (Synergismus) für alle Dosierungsgruppen des Hauptversuchs (300 mg/kg HU + 0,5 bzw. 1,0 mg/kg CU und 350 mg/kg HU + 0,5 bzw. 1,0 mg/kg CU). Für die beobachteten Retardierungsmerkmale am Skelett ergab sich ein abweichendes Ergebnis: In der Dosierung 300 mg/kg HU + 0,5 mg/kg CU entstand ein Antagonismus, es wurden weniger Retardierungserscheinungen beobachtet, als es dem Bestandteil der Kombination mit der stärkeren Wirkung entsprach, und auch für die höheren Kombinationsdosen ergab sich kein bzw. bei der Kombination mit 1,0 mg/kg CU nur ein geringfügiger Anstieg der Retardierungsmerkmale.
- 4.) In Bezug auf die Skelettanomalien, die wir als Variationen einstufen, ergab sich ebenfalls für beide Pharmaka in Einzeldosierung ein Anstieg gegenüber den Kontrolltieren, wobei es sich nach Applikation von Hydroxyharnstoff um einen relativ geringfügigen Anstieg dieser Effekte handelte, hingegen nach Applikation von Cumorit<sup>®</sup> um einen deutlichen dosisabhängigen Anstieg dieser Effekte. Es handelt sich vor allem um wellige Rippen und poröse Strukturen in den Knochen der oberen Extremitäten. Man kann die welligen Rippen auch als vorübergehende grob-strukturelle Abnormitäten bezeichnen. Nach Kombination mit Hydroxyharnstoff traten diese Anomalien nicht vermehrt auf. Bei den Kombinationsversuchen mit 350 mg/kg HU traten sie sogar seltener auf als bei der Applikation der entsprechenden Einzeldo-

sis Cumorit<sup>®</sup>, so daß man von einer Abschwächung des Effektes (Antagonismus) in Bezug auf das Auftreten der Variationen sprechen kann.

- 5.) Die teratogenen Effekte (geringgradige und schwere Mißbildungen), die aus der Literatur nach Gabe von Hydroxyharnstoff in der Frühschwangerschaft bekannt sind, konnten reproduziert werden.
- 6.) Aber auch nach Gabe von Cumorit<sup>®</sup> fanden wir - allerdings nur nach Extrem-Dosierungen - Veränderungen, die als "Mißbildungen" gewertet werden müssen. Diese Effekte waren uns aus der Literatur über Tierversuche mit Östrogenen und Gestagenen bzw. deren Kombination nicht bekannt. Es handelt sich um einen geringfügigen Anstieg der leichten Mißbildungen an Sternum und Wirbelsäule und einen ausgeprägten Anstieg von leichten Mißbildungen an Schädel und den oberen Extremitäten (verwachsene Ossa Zygomatica und Verkürzung des Humerus). Besonders auffällig war das gehäufte Auftreten von Verbiegungen der Knochen der oberen Extremität (Scapula, Humerus, Radius und Ulna), ein Befund, der häufig gleichzeitig mit den oben bereits erwähnten porösen Knochenstrukturen auftrat (und wahrscheinlich hierdurch ausgelöst war), und den wir nach Gabe von Hydroxyharnstoff kaum beobachteten. Wir stuften diese Veränderungen als "schwerwiegende Mißbildung" ein.
- 7.) Dieser teratogene, "Cumorit<sup>®</sup>-spezifische" Effekt wurde in den Kombinationsversuchen durch die zusätzliche Gabe von Hydroxyharnstoff nicht verstärkt.
- 8.) Im Gegensatz dazu fanden wir in Bezug auf die Mißbildungen, die wir vor allem nach Gabe von Hydroxyharnstoff allein beobachtete hatten, eine Vermehrung des Effektes (Synergismus) durch die zusätzliche Gabe von Cumorit<sup>®</sup>. In den Dosierungen 300 mg/kg HU + 1,0 mg/kg CU und 350 mg/kg HU + 0,5 bzw. 1,0 mg/kg CU steigt die Rate der Feten mit Mißbildungen signifikant gegenüber der Mißbildungsrate nach Einzeldosierung. Es handelt sich vor allem um einen Anstieg der Feten mit leichten Mißbildungen an Schädel, Sternum und Wirbelsäule. Der Effekt am Schädel ist besonders ausgeprägt, zumal es sich bei den verwachsenen Ossa Zygomatica um einen Effekt handelt, der sowohl nach Gabe von Hydroxyharnstoff allein, als auch nach

Gabe von Cumorit<sup>®</sup> allein beobachtet worden war. Der Effekt an der Wirbelsäule fällt erst bei den hohen Kombinationsdosen ins Gewicht. Zugleich wurde bei der Kombinationsdosis 350 mg/kg HU + 1,0 mg/kg CU auch ein signifikanter bzw. hoch signifikanter Anstieg der schweren Mißbildungen an Schädel, Wirbelsäule und Cauda gefunden.

- 9.) Die Ergebnisse von HARKERT und von KREYBIG (24) können von uns nicht bestätigt werden. Wir fanden über-additive teratogene Effekte nur ausnahmsweise und nur mit Dosierungen, die zu einer extremen Embryomortalität führten. In den meisten Fällen waren kaum additive Effekte zu beobachten. Es wurden auch antagonistische Wirkungen gesehen.

## 6. Zusammenfassung

Das Ergebnis unserer Arbeit ist, daß im Tierversuch Cumorit<sup>®</sup> appliziert in der Frühschwangerschaft nur dann eine teratogene Tendenz zeigt, wenn Dosierungen benutzt werden, die für einen großen Teil der Feten letal sind (TIEMANN, 20). Bei diesen Extrem-Dosierungen kann die Wirkung eines anderen Teratogens verstärkt werden. Über die Ursachen dieser Wirkung gibt unsere Arbeit keine Auskunft. Handelt es sich bei den embryoletalen und gewichtsretardierenden Wirkungen um einen durch Plazenta-insuffizienz bedingten Effekt? Sind die Verbiegungen an den Extremitäten möglicherweise durch einen Verlust der hormonellen Balance, die zu Uteruskontraktionen führt, bedingt (15, 36, 37)? Besteht bei den beobachteten Knochenstrukturveränderungen Parallelität zu dem von ORNOY (18) beobachteten Effekt nach Gabe von Östradiol allein? Diese Fragen können wir in diesem Rahmen nicht beantworten, ebenso wenig wie die Frage, ob der synergistische Effekt in Bezug auf die Mißbildungen auch in Kombination mit anderen teratogenen Faktoren als den untersuchten auftreten würde. Weiterhin bleibt zu untersuchen, ob die verschiedenen synthetischen Stoffe, wie sie in den oral wirksamen Östrogen/Gestagenen-Kombinationspräparaten enthalten sind, ähnliche Effekte zeigen wie die hier verwendeten natürlich vorkommenden Hormone.

Über Strukturveränderungen und Verbiegungen an Knochen ist aus klinischen Studien mit Müttern mißgebildeter Kinder, die in der Frühschwangerschaft Östrogen/Gestagen appliziert bekommen hatten, nichts bekannt. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit können einen Hinweis geben auf die Möglichkeit der Teratogenität des ehemals als Schwangerschaftstest angewandten Östrogen/Gestagen-Kombinationspräparates Cumorit<sup>®</sup> (Duogynon<sup>®</sup>) bei Extrem-Dosierung.

7. Literaturverzeichnis

1. Balci, S., et al., 1973, Birth defects and oral contraceptives, Lancet, 2, 1098.
2. Gal, I., et al., 1967, Hormonal pregnancy tests and congenital malformation, Nature, 216, 83.
3. Gal, I., 1972, Risks and benefits of the use of hormonal pregnancy test tablets, Nature, 240, 241 - 242.
4. Greenberg, G., et al., 1977, Maternal drug histories and congenital abnormalities, Br. Med. J., 2, 853.
5. Jaffe, P., et al., 1975, Incidence of congenital limb-reduction deformities, Lancet, 1, 526.
6. Janerich, D.T., et al., 1974, Oral contraceptives and congenital limb-reduction defects, N. Engl. J. Med., 291, 697.
7. Harlap, S., et al., 1975, Birth defects and estrogens and progestones in pregnancy, Lancet, 1, 682 - 683.
8. Hellström, B., et al., 1976, Prenatal sex-hormone exposure and congenital limb-reduction defects, Lancet, 2, 372.
9. Kaufman, R.L., 1973, Birth defects and oral contraceptives, Lancet, 1, 1396.
10. Nora, J.J. and Nora, A.H., 1973, Birth defects and oral contraceptives, Lancet, 1, 941.
11. Goujard, J. and Rumeau-Rouquette, C., 1977, First trimester exposure to progestagen/estrogen and congenital malformations, Lancet, 1, 482.
12. Heinonen, O.P., et al., 1977, Cardiovascular birth defects and antenatal exposure to female sex hormones, N. Engl. J. Med., 296, 67.
13. Laurence, K.M., 1972, Reply to GAL, Nature, 240, 242.
14. Torfs, C.P., et al., 1981, The relationship between hormonal pregnancy-tests and congenital anomalies: a prospective study, Am. J. Epidemiology, 113, No. 5, 563 - 574.
15. Bartholomeusz, R.K. and Bruce, N.W., 1976, Effects of maternal progesterone supplementation on fetal, placental and corpus luteal weights in the rat, Biol. Reprod., 15, 84 - 89.
16. Malakowskii, V.G. and Prozorovskii, V.B., 1972, Brain lesions in rats after intrauterine exposure to estrone and progesterone, Bull. Exp. Biol. Med., 74, No. 10, 34 - 36.

17. Nishihara, G., 1958, Influence of female sex hormones in experimental teratogenesis, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 97, 809 - 812.
18. Ornoy, A., 1973, Transplacental effects of estrogen on osteogenesis in rat fetuses, Pathology, 5, 183 - 188.
19. Piotrowski, J., 1971, Effect of steroid hormones on embryonic development, Folia Med. Cracoviensia, 13, 2, 251 - 280.
20. Tiemann, B., 1983, Die embryotoxische Wirkung von Hydroxyharnstoff und einem Gestagen-Östrogen Präparat bei der Ratte, Dissertation an der Freien Universität Berlin, Medizinische Fachbereiche, in Vorbereitung.
21. Nelson, M.M., et al., 1971, Retrospektivstudie, Brit. Med. J., 1, 523.
22. Scott, W.J., et al., 1971, DNA synthesis inhibition and cell death associated with hydroxyurea teratogenesis in rat embryos, Develop. Biol., 26, 306 - 315.
23. Chaube, Sh. and Murphy, M.L., 1966, The effects of Hydroxyurea and related compounds on the rat fetus, Cancer Res., 26, 1448 - 1457.
24. Harkert, S. und von Kreybig, Th., 1979, Die Wirkung eines Östrogen/Gestagen-Kombinationspräparates auf die vorgeburtliche Entwicklung der Ratte, Dtsch. Z. Mund-Kiefer-Gesichts-Chir., 3, 169 - 176.
25. Goodman, L.S. and Gilman, A., 1975, Hydroxyurea, in: The Pharmacological Basis of Therapeutics, Macmillan Publ. Co. Inc., New York, pg. 1294.
26. Ritter, E.J., 1977, Altered biosynthesis, in: Handbook of Teratology, (J.G. Wilson, F. Clarke and C. Fraser, eds.), Vol. 2, Mechanisms and Pathogenesis, Plenum Press, New York and London, pp. 99 - 114.
27. Scott, W.J. Jr., 1977, Cell death and reduced proliferative rate, in: Handbook of Teratology, (J.G. Wilson, F. Clarke and C. Fraser, eds.), Vol. 2, Mechanisms and Pathogenesis, Plenum Press, New York and London, pp. 81 - 96.
28. Herken, R., 1980, Cell cycle phase specificity of hydroxyurea and its effects on the cell kinetics in embryonic spinal cord, Teratology, 21, 9 - 14.
29. Wilson, J.G., et al., 1975, Comparative distribution and embryotoxicity of hydroxyurea in pregnant rats and rhesus monkeys, Teratology, 11, 169 - 178.
30. Wilson, J.G., 1964, Teratogenic interaction of chemical agents in the rat, J. Pharm. Exp. Ther., 144, 429 - 436.
31. Neubert, D., et al., 1980, Drug-induced damage to the embryo or fetus, in: Current Topics in Pathology, (E. Grundmann, ed.), Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, pp. 279 - 283.

32. Patau, K., 1943, Zur statistischen Beurteilung von Messreihen, Biol. Zentralblatt, 63, 152 - 168.
33. Claus, G. and Ebner, H., 1971, Grundlagen der Statistik für Psychologen, Pädagogen und Soziologen, H. Deutsch Verlag, Frankfurt, pp. 235 - 238.
34. Fritz, H. and Hess, R., 1970, Ossification of the rat and mouse skeleton in the perinatal period, Teratology, 3, 331 - 337.
35. Lorke, D., 1965, Embryotoxische Wirkungen an der Ratte, Naunyn-Schmied. Arch. Exp. Path. Pharmac., 250, 360 - 382.
36. Carpent, G. and Desclin, L., 1967, Progress of pregnancy and foetal morphology after early pituitary transplantation and hormonal therapy in the rat, Acta Endocrin., 55, 10 - 30.
37. Carpent, G., 1962, Le Déséquilibre Hormonal Gravidique et ses Repercussions sur la Morphologie du Foetus chez le Rat, Arch. Anat. Microscopique Morph. Exp., 51, 460 - 539.

## 8. Anhang



Tabelle 16

TERATOLOGISCHE GESAMTBURTEILUNG  
AUFTEILUNG IN RETARDIERUNGEN; VARIATIONEN; MALFORMATIONEN GESAMT (= minor + major);  
MALFORMATIONEN MINOR; MALFORMATIONEN MAJOR.

| Pharmakon/Dosis (mg/kg):    | A  |      | B  |      | C   |      | D   |      | E   |      | F   |      | Z   |      |
|-----------------------------|----|------|----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|
|                             | n  | %    | n  | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    |
| 0,0625                      | 87 |      | 54 |      | 109 |      | 221 |      | 144 |      | 110 |      | 777 |      |
| 1. Anzahl der Feten         | 61 | 70,1 | 43 | 79,6 | 57  | 52,3 | 95  | 43,0 | 47  | 32,6 | 13  | 11,8 | 534 | 68,7 |
| 2. O.B.                     | 26 | 29,9 | 11 | 20,4 | 52  | 47,7 | 126 | 57,0 | 97  | 67,4 | 97  | 88,2 | 243 | 31,3 |
| 3. nicht O.B.               | 17 | 19,5 | 3  | 5,6  | 39  | 35,8 | 100 | 45,2 | 77  | 53,5 | 89  | 80,9 | 156 | 20,1 |
| 4. Feten m. Retard.         | 10 | 11,5 | 8  | 14,8 | 15  | 13,8 | 49  | 22,2 | 38  | 26,4 | 72  | 65,4 | 86  | 11,1 |
| 5. Feten m. Variat.         |    |      |    |      |     |      |     |      |     |      |     |      |     |      |
| 6. Feten m. Malform. gesamt | 1  | 1,1  | 2  | 3,7  | 24  | 22,0 | 59  | 26,7 | 49  | 34,0 | 70  | 63,6 | 65  | 8,4  |
| 7. Malform. Minor           | 0  | 0    | 2  | 3,7  | 23  | 21,1 | 55  | 24,9 | 43  | 29,9 | 60  | 54,6 | 61  | 7,8  |
| 8. Malform. Major           | 1  | 1,1  | 0  | 0    | 1   | 0,9  | 18  | 8,1  | 15  | 10,4 | 42  | 38,2 | 5   | 0,6  |

Tabelle 17

TERATOLOGISCHE GESAMTBURTEILUNG  
AUFTEILUNG IN RETARDIERUNGEN; VARIATIONEN; MALFORMATIONEN GESAMT (= minor + major);  
MALFORMATIONEN MINOR; MALFORMATIONEN MAJOR.

| Pharmakon/Dosis (mg/kg):      | HU 200 |      | HU 300 |      | HU 350 |      | HU 400 |      | HU 450 |      | HU 550 |      | Kontrolle |      |
|-------------------------------|--------|------|--------|------|--------|------|--------|------|--------|------|--------|------|-----------|------|
|                               | n      | %    | n      | %    | n      | %    | n      | %    | n      | %    | n      | %    | n         | %    |
| 1. Anzahl der Feten           | 95     |      | 137    |      | 111    |      | 156    |      | 113    |      | 97     |      | 777       |      |
| 2. O.B.                       | 66     | 69,5 | 40     | 29,2 | 18     | 16,2 | 0      | 0    | 0      | 0    | 0      | 0    | 534       | 68,7 |
| 3. nicht O.B.                 | 29     | 30,5 | 97     | 70,8 | 93     | 83,8 | 156    | 100  | 113    | 100  | 97     | 100  | 243       | 31,3 |
| 4. Feten m. Retard.           | 19     | 20,0 | 89     | 65,0 | 80     | 72,1 | 131    | 84,0 | 113    | 100  | 97     | 100  | 156       | 20,1 |
| 5. Feten m. Variat.           | 9      | 9,5  | 4      | 2,9  | 3      | 2,7  | 9      | 5,8  | 9      | 8,0  | 15     | 15,5 | 86        | 11,1 |
| 6. Feten m. Malform. gesamt   | 6      | 6,3  | 50     | 36,5 | 70     | 63,1 | 153    | 98,1 | 112    | 99,1 | 97     | 100  | 65        | 8,4  |
| 7. Malform. Minor             | 5      | 5,3  | 48     | 35,0 | 68     | 61,3 | 149    | 95,5 | 107    | 94,7 | 96     | 99,0 | 61        | 7,8  |
| 8. Malform. Major             | 1      | 1,0  | 6      | 4,4  | 24     | 21,6 | 136    | 87,2 | 110    | 97,3 | 97     | 100  | 5         | 0,6  |
| 9. > 3 Malform. Minor         | 0      | 0    | 6      | 4,4  | 12     | 10,8 | 61     | 39,1 | 76     | 67,3 | 88     | 90,7 | 1         | 0,1  |
| 10. > 3 Malform. Major        | 0      | 0    | 0      | 0    | 13     | 11,7 | 100    | 64,1 | 91     | 80,5 | 97     | 100  | 0         | 0    |
| 11. > 3 Malform. gesamt       | 0      | 0    | 13     | 9,5  | 32     | 28,8 | 142    | 91,0 | 109    | 96,5 | 97     | 100  | 1         | 0,1  |
| 12. Retard. u. Variat.        | 2      | 2,1  | 3      | 2,2  | 2      | 1,8  | 8      | 5,1  | 9      | 8,0  | 15     | 15,5 | 37        | 4,8  |
| 13. Retard. u. Malform. ges.  | 4      | 4,2  | 43     | 31,4 | 57     | 51,3 | 128    | 82,0 | 112    | 99,1 | 97     | 100  | 26        | 3,3  |
| 14. Variat. u. Malform. ges.  | 0      | 0    | 3      | 2,2  | 2      | 1,8  | 9      | 5,8  | 9      | 8,0  | 15     | 15,5 | 7         | 0,9  |
| 15. Malform. minor u. major   | 0      | 0    | 4      | 2,9  | 22     | 19,8 | 132    | 84,6 | 105    | 92,9 | 96     | 99,0 | 1         | 0,1  |
| 16. Malform. minor u. Ret.    | 4      | 4,2  | 40     | 29,2 | 55     | 49,6 | 124    | 79,5 | 107    | 94,7 | 96     | 99,0 | 25        | 3,2  |
| 17. Malform. minor u. Variat. | 0      | 0    | 3      | 2,2  | 2      | 1,8  | 9      | 5,8  | 7      | 6,2  | 14     | 14,4 | 6         | 0,8  |
| 18. Malform. major u. Variat. | 0      | 0    | 0      | 0    | 1      | 0,9  | 8      | 5,1  | 9      | 8,0  | 15     | 15,5 | 1         | 0,1  |
| 19. Malform. major u. Ret.    | 0      | 0    | 5      | 3,6  | 19     | 17,1 | 117    | 75,0 | 110    | 97,3 | 97     | 100  | 2         | 0,3  |

Bei den beobachteten Anomalien handelt es sich im Wesentlichen um folgende. Retardierungsmerkmale: mangelhaft verknöcherte Schädeldecken, mangelhaft verknöcherte vertebrale Ossifikationszentren, mangelhaft verknöcherte Pfoten. Bei den Variationen kristallisierte sich keine deutliche Steigerung gegenüber den Kontrollfeten heraus. Geringgradige Mißbildungen: verwachsene Ossa Zygomatica, verwachsene sternale Ossifikationszentren, asymmetrisch angelegte und fehlende vertebrale Zentren, Verkürzungen von Extremitätenknochen. Schwere Mißbildungen: deformierter Hirnschädel, irregulär verwachsene Schädelnähte, fehlende Ossa Tympanica, Unterlippen- und Gaumenspalten, irregulär angelegte und verwachsene vertebrale Ossifikationszentren, fehlende, verkürzte oder geknickte Caudae, Fehlen von Extremitätenknochen, irreguläre Stellung der Hinterpfoten.

Tabelle 18: Ergebnisse der Arbeit von S. Harkert und Th. von Kreybig (24):

Die Wechselwirkung von 0,5 mg/kg Duogynon (therapeutische Dosis) s.c. und 340 mg/kg Hydroxyharnstoff i.p., appliziert am 12. Tag der Gestation bei graviden Rattenweibchen.

| Applizierte Substanzen<br>Hydroxy-<br>harnstoff<br>mg/kg | Duogynon<br>mg/kg | Zahl der<br>Mutter-<br>tiere | Zahl der<br>Implanta-<br>tionen<br>insgesamt | Resorptionen<br>em-<br>fetal<br>bryo-<br>nal | EVZ <sup>1</sup><br>WVZ | Mißgebildete<br>Feten<br>I II III <sup>2</sup> | Normale<br>Feten |
|----------------------------------------------------------|-------------------|------------------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------|-------------------------|------------------------------------------------|------------------|
| --                                                       | 0,5               | 4                            | 49                                           | 15 15 30                                     | 19                      | -- -- --                                       | --               |
| 340                                                      | --                | 5                            | 57                                           | -- -- --                                     | --                      | 30 2 --                                        | 25               |
| 340                                                      | 0,5               | 7                            | 87                                           | 7 42 49                                      | 3                       | 21 13 1                                        | --               |

<sup>1</sup> Entwicklungs- und Wachstumsverzögerung

<sup>2</sup> Mißbildung I: Leichte Brachygenie, 2. T. Ohrmuscheldysmorphien, sonst regelrechte Gestaltentwicklung  
 Mißbildung II: Brachygenie, Ohrmuscheldysplasie, Ektrodaktilien der hinteren Extremitäten, Kaudalhypoplasien, Nabelhernien

Mißbildung III: Embryopathiesyndrom mit multiplen Einzelsymptomen

Tabelle 19 M U T T E R T I E R E u n d W Ü R F E

|                                     | Kontrolle   |          | Lösungsmittelkontrolle |          | p      |
|-------------------------------------|-------------|----------|------------------------|----------|--------|
|                                     | n           | %        | n                      | %        |        |
| Anzahl der Würfe                    | 69          |          | 18                     |          |        |
| Würfe vollst. resorb.               | 0           |          | 0                      |          |        |
| Implantationsstellen                | 662         |          | 174                    |          |        |
| Würfe mit Resorpt.                  | 25          | 36,2     | 9                      | 50,0     | > 0,05 |
| Resorpt. ges. (ohne 2.)             | 41          | 6,2      | 18                     | 10,3     |        |
| Resorpt. mitte u. spät              | 27          | 4,1      | 13                     | 7,5      | > 0,05 |
| Lebende Feten                       | 621         |          | 156                    |          |        |
| Mittelgewicht d. Feten              |             | 4,80 g   |                        | 4,70 g   | < 0,05 |
| Standardabweichung                  |             | ± 0,32 g |                        | ± 0,24 g |        |
| Runts (Gew. < 3,19 g)               | 1           |          | 0                      |          |        |
| Implantationen pro Wurf*            | 9,6 (± 2,1) |          | 9,7 (± 1,7)            |          |        |
| Lebende Feten pro Wurf*             | 9,0 (± 2,3) |          | 8,7 (± 2,6)            |          |        |
| Resorpt. ges. pro Wurf*             | 0,6 (± 1,1) |          | 1,0 (± 1,3)            |          |        |
| Resorpt. mitte u. spät<br>pro Wurf* | 0,4 (± 1,0) |          | 0,7 (± 1,2)            |          |        |

\* Mittelwert (± Standardabweichung).

%-Angabe in Reihe 4: in % der Anzahl der Würfe; %-Angabe in Reihe 5, 6: in % der Anzahl der Implant.

p &gt; 0,05 = nicht signifikant; p &lt; 0,05 = signifikant.

Tabelle 20 TERATOLOGISCHE GESAMTBEURTEILUNG, AUFTEILUNG IN RETARDIERUNGEN;  
VARIATIONEN; MALFORMATIONEN GESAMT; MALFORMATIONEN MINOR; MALFORMATIONEN MAJOR

|                          | Kontrolle |      | Lösungsmittelkontrolle |      | P        |
|--------------------------|-----------|------|------------------------|------|----------|
|                          | n         | %    | n                      | %    |          |
| Anzahl der Feten         | 621       |      | 156                    |      |          |
| O.B.                     | 434       | 69,9 | 100                    | 64,1 |          |
| nicht O.B.               | 187       | 30,1 | 56                     | 35,9 | p > 0,05 |
| Feten m. Retard.         | 131       | 22,1 | 25                     | 16,0 | p > 0,05 |
| Feten m. Variat.         | 74        | 11,9 | 12                     | 7,7  | p > 0,05 |
| Feten m. Malform. gesamt | 39        | 6,3  | 26                     | 16,7 | p < 0,05 |
| Malform. Minor           | 35        | 5,6  | 26                     | 16,7 | p < 0,05 |
| Malform. Major           | 4         | 0,6  | 1                      | 0,6  |          |
| > 3 Malform. Minor       | 0         | 0    | 1                      | 0,6  |          |
| > 3 Malform. Major       | 0         | 0    | 0                      | 0    |          |
| > 3 Malform. gesamt      | 0         | 0    | 1                      | 0,6  |          |
| Feten m. Retard.         |           |      |                        |      |          |
| u. mit Variat.           | 34        | 5,5  | 3                      | 1,9  |          |
| Feten m. Retard. u.      |           |      |                        |      |          |
| mit Malform. gesamt      | 21        | 3,4  | 5                      | 3,2  |          |
| Feten m. Variat. u.      |           |      |                        |      |          |
| mit Malform. gesamt      | 7         | 1,1  | 0                      | 0    |          |
| Feten m. Malform. minor  |           |      |                        |      |          |
| u. m. Malform. major     | 0         | 0    | 1                      | 0,6  |          |
| Feten m. Malform.        |           |      |                        |      |          |
| minor u. m. Retard.      | 20        | 3,2  | 5                      | 3,2  |          |
| Feten m. Malform.        |           |      |                        |      |          |
| minor u. m. Variat.      | 6         | 1,0  | 0                      | 0    |          |
| Feten m. Malform.        |           |      |                        |      |          |
| major u. m. Variat.      | 1         | 0,2  | 0                      | 0    |          |
| Feten m. Malform.        |           |      |                        |      |          |
| major u. m. Retard.      | 1         | 0,2  | 1                      | 0,6  |          |

Tabelle 21

## ABNORMITÄTEN BEI KONTROLLEN UND LÖSUNGSMITTELKONTROLLEN

|                                                        | Kontrolle |      | Lösungsmittelkontrolle |      | $\chi^2$ |
|--------------------------------------------------------|-----------|------|------------------------|------|----------|
|                                                        | n         | %    | n                      | %    |          |
| Anzahl d. Feten                                        | 621       | 100  | 156                    | 100  |          |
| nicht O.B.                                             | 187       | 30,1 | 56                     | 35,9 | 1,68     |
| nicht O.B. - Schädel                                   | 105       | 16,9 | 32                     | 20,5 | 0,88     |
| Fontanelle sehr groß <sup>1</sup>                      | 13        | 2,1  | 0                      | 0    | 2,17     |
| Schädeldach mangelh.<br>verknöchert <sup>1</sup>       | 87        | 14,0 | 13                     | 8,3  | 3,09     |
| Os Zygomaticum<br>verw., eins. <sup>4</sup>            | 19        | 3,1  | 19                     | 12,2 | } 20,68  |
| Os Zygomaticum<br>verw., bds. <sup>4</sup>             | 8         | 1,3  | 4                      | 2,6  |          |
| nicht O.B. - Sternum                                   | 35        | 5,6  | 5                      | 3,2  | 1,05     |
| Fehlen v. O.Z. <sup>1</sup>                            | 0         | 0    | 1                      | 0,6  | 0,56     |
| oberstes O.Z. gekerbt <sup>2</sup>                     | 25        | 4,0  | 3                      | 1,9  | 1,04     |
| zusätzl. O.Z. <sup>2</sup>                             | 9         | 1,5  | 0                      | 0    | 1,19     |
| 2 O.Z. verw. <sup>4</sup>                              | 2         | 0,3  | 1                      | 0,6  | 0,02     |
| nicht O.B. - Rippen                                    | 40        | 6,4  | 9                      | 5,8  | 0,01     |
| Rippen wellig <sup>3</sup>                             | 40        | 6,4  | 9                      | 5,8  | 0,01     |
| nicht O.B. - Wirbelsäule                               | 49        | 7,9  | 13                     | 8,3  | 0,0002   |
| Halswirbelsäule                                        | 0         | 0    | 0                      | 0    |          |
| Brustwirbelsäule                                       | 48        | 7,7  | 13                     | 8,3  | 0,007    |
| Lendenwirbelsäule                                      | 1         | 0,2  | 1                      | 0,6  | 0,03     |
| Kreuzbein                                              | 0         | 0    | 0                      | 0    |          |
| 1 - 2 O.Z. betr.                                       | 48        | 7,7  | 11                     | 7,1  | 0,014    |
| > 2 O.Z. betr.                                         | 1         | 0,2  | 2                      | 1,3  | 1,68     |
| ventr. O.Z. trommel-<br>schlegelf., sym. <sup>1</sup>  | 38        | 6,1  | 10                     | 6,4  | 0,002    |
| 2 ventr. O.Z. sym. <sup>1</sup>                        | 7         | 1,1  | 3                      | 1,9  | 0,15     |
| ventr. O.Z. trommel-<br>schlegelf., asym. <sup>4</sup> | 3         | 0,5  | 6                      | 3,9  | 9,55     |
| 2 ventr. O.Z. asym. <sup>4</sup>                       | 0         | 0    | 1                      | 0,6  | 0,56     |
| lat. O.Z. fehlen <sup>4</sup>                          | 0         | 0    | 1                      | 0,6  | 0,56     |
| irreg. O.Z. <sup>5</sup>                               | 0         | 0    | 1                      | 0,6  | 0,56     |
| nicht O.B. - Schwanz                                   | 2         | 0,3  | 0                      | 0    | 0,03     |
| Schwanz geknickt <sup>5</sup>                          | 2         | 0,3  | 0                      | 0    | 0,03     |
| nicht O.B. - Becken                                    | 0         | 0    | 0                      | 0    |          |
| nicht O.B. - Extremitäten                              | 6         | 1,0  | 4                      | 2,6  | 1,43     |
| vord. Extremitäten                                     | 2         | 0,3  | 0                      | 0    | 0,03     |
| Vorderpfoten mangelh.<br>verknöchert <sup>1</sup>      | 1         | 0,2  | 0                      | 0    | 0,56     |
| Scapula verbg., eins. <sup>5</sup>                     | 1         | 0,2  | 0                      | 0    | 0,56     |
| Humerus verbg., eins. <sup>5</sup>                     | 1         | 0,2  | 0                      | 0    | 0,56     |
| hintere Extremitäten                                   | 4         | 0,6  | 4                      | 2,6  | 2,82     |
| Hinterpfoten mangelh.<br>verknöchert <sup>1</sup>      | 4         | 0,6  | 4                      | 2,6  | 2,82     |
| irreg. Stellung der<br>Hinterpfoten <sup>5</sup>       | 1         | 0,2  | 0                      | 0    | 0,56     |

<sup>1</sup> = Retardierung; <sup>2</sup> = Variation; <sup>3</sup> = resersible Mißbildung;

<sup>4</sup> = Malformation minor; <sup>5</sup> = Malformation major.

ab  $\chi^2 = 3,8$  besteht ein signifikanter Unterschied.

Tabelle 22:

Liste der Abnormitäten

1. Retardierungen
2. Variationen
3. Malformationen minor
4. Malformationen major

1. Retardierungen

|                      |       |                                        |
|----------------------|-------|----------------------------------------|
| <u>Schädel:</u>      | E 07  | Fontanelle sehr groß                   |
|                      | E 08  | Schädeldach mangelhaft verknöchert     |
| <u>Sternum:</u>      | E 19  | Fehlen von Ossifikationszentren        |
| <u>Wirbelsäule:</u>  | E 42  | ventr. O.Z. trommelschlegelförmig sym. |
|                      | E 43  | 2 ventrale O.Z. sym.                   |
|                      | E 44  | ventrale O.Z. fehlen, HWS              |
| <u>Becken:</u>       | E 59  | Ossifikationszentren fehlen            |
| <u>Extremitäten:</u> | EE 11 | Vorderpfoten mangelhaft verknöchert    |
|                      | EE 37 | Hinterpfoten mangelhaft verknöchert    |

2. Variationen:

|                      |          |                                       |
|----------------------|----------|---------------------------------------|
| <u>Sternum:</u>      | E 20     | oberstes Ossifikationszentrum gekerbt |
|                      | E 21     | zusätzliches Ossifikationszentrum     |
| <u>Rippen:</u>       | E 26     | 13. Rippe fehlt                       |
|                      | E 27     | Rippen wellig                         |
| <u>Extremitäten:</u> | E 63-64  | Scapula porös                         |
|                      | E 69-70  | Humerus porös                         |
|                      | E 75-76  | Radius-Ulna porös                     |
|                      | EE 25-26 | Femur porös                           |

3. Malformation minor:

|                     |         |                                           |
|---------------------|---------|-------------------------------------------|
| <u>Schädel:</u>     | E 16-17 | Os zygomaticum verwachsen                 |
|                     | E 18    | zusätzliches O.Z. über Os nasale          |
| <u>Sternum:</u>     | E 22    | 2 Ossifikationszentren verwachsen         |
|                     | E 23    | mehr als 2 O.Z. verwachsen                |
|                     | E 24    | Sternum gespalten                         |
|                     | E 25    | Sternum irregulär verknöchert             |
| <u>Wirbelsäule:</u> | E 45    | ventrale O.Z. trommelschlegelförmig asym. |
|                     | E 46    | 2 ventrale O.Z. asym.                     |
|                     | E 47    | ventrale O.Z. fehlen (BWS/LWS/KWS)        |
|                     | E 48    | laterale O.Z. fehlen                      |
|                     | E 49    | Atlas gespalten                           |

Tabelle 22 Fortsetzung

|                      |          |                  |
|----------------------|----------|------------------|
| <u>Extremitäten:</u> | E 67-68  | Humerus kurz     |
|                      | E 79-80  | Radius-Ulna kurz |
|                      | EE 27-28 | Femur kurz       |
|                      | EE 31-32 | Tibia kurz       |

4. Malformation major

|                      |          |                                     |
|----------------------|----------|-------------------------------------|
| <u>Schädel:</u>      | E 09     | Hirnschädel sehr rund               |
|                      | E 10     | Nase kurz                           |
|                      | E 11     | Gaumenspalte                        |
|                      | E 12     | Unterlippe gespalten                |
|                      | E 13     | Schädelnähte irregulär verwachsen   |
|                      | E 14-15  | Os tympanicum fehlt                 |
| <u>Rippen:</u>       | E 28     | 1 - 2 Rippen verwachsen             |
|                      | E 29     | Rippe gegabelt                      |
| <u>Wirbelsäule:</u>  | E 50     | irreguläre Ossifikationszentren     |
|                      | E 51     | ventrale O.Z. verschmolzen          |
|                      | E 52     | laterale O.Z. verschmolzen          |
|                      | E 53     | O.Z. lateral-ventral verschmolzen   |
|                      | E 54     | laterale O.Z. gespalten             |
|                      | E 55     | Kreuzbein regellos                  |
| <u>Schwanz:</u>      | E 56     | Schwanz fehlt                       |
|                      | E 57     | Schwanz kurz                        |
|                      | E 58     | Schwanz geknickt                    |
| <u>Becken:</u>       | E 60     | Os ischium geknickt                 |
|                      | E 61     | Os pubis geknickt                   |
|                      | E 62     | Os ilium mit Wirbel verwachsen      |
| <u>Extremitäten:</u> | E 65-66  | Scapula verbogen                    |
|                      | E 71-72  | Proc. Delt fehlt                    |
|                      | E 73-74  | Humerus verbogen                    |
|                      | E 77-78  | Radius-Ulna verbogen                |
|                      | EE 07-08 | Radius fehlt                        |
|                      | EE 09-10 | Ulna fehlt                          |
|                      | EE 12-13 | < 3 Metacarp.                       |
|                      | EE 16-17 | Syndactylie                         |
|                      | EE 18-19 | Polydactylie                        |
|                      | EE 22-23 | Oligodactylie < 3 Phalangen         |
|                      | EE 24    | irregulär Stellung der Vorderpfoten |
|                      | EE 29-30 | Femur geknickt                      |
|                      | EE 33-34 | Tibia fehlt                         |
|                      | EE 35-36 | Tibia-Fibula geknickt               |
|                      | EE 38-39 | < 3 Metatarsalia                    |
|                      | EE 45-46 | Oligodactylie < 3                   |
|                      | EE 42    | irregulär Stellung der Hinterpfoten |

Tabelle 23 A

Einzeldosen

TERATOLOGISCHE GESAMTBEURTEILUNG,  
AUF TRETEN VON ABNORMITÄTEN IN DEN EINZELNEN KÖRPERREGIONEN

| Pharmakon/Dosis (mg/kg):              | Z   |      | A  |      | B   |      | C   |      | D   |      | E   |      | F   |      |
|---------------------------------------|-----|------|----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|
|                                       | n   | %    | n  | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    |
| 1. Anzahl der Feten                   | 777 |      | 95 |      | 137 |      | 111 |      | 109 |      | 221 |      | 144 |      |
| 2. O.B.                               | 534 | 68,7 | 66 | 69,5 | 40  | 29,2 | 18  | 16,2 | 57  | 52,3 | 95  | 43,0 | 47  | 32,6 |
| 3. Feten m. Abnorm.<br>(= nicht O.B.) | 243 | 31,3 | 29 | 30,5 | 97  | 70,8 | 93  | 83,8 | 52  | 47,7 | 126 | 57,0 | 97  | 67,4 |
| 4. nicht O.B. - Schädel               | 137 | 17,6 | 13 | 13,7 | 46  | 33,6 | 54  | 48,6 | 42  | 38,5 | 101 | 45,7 | 82  | 56,9 |
| 5. nicht O.B. - Sternum               | 40  | 5,2  | 6  | 6,3  | 7   | 5,1  | 9   | 8,1  | 8   | 7,3  | 15  | 6,8  | 12  | 8,3  |
| 6. nicht O.B. - Rippen                | 49  | 6,3  | 3  | 3,2  | 1   | 0,7  | 0   | 0    | 7   | 6,4  | 38  | 17,2 | 32  | 22,2 |
| 7. nicht O.B. - Wirbelsäule           | 62  | 8,0  | 9  | 9,5  | 83  | 60,6 | 82  | 73,8 | 8   | 7,3  | 18  | 8,1  | 18  | 12,5 |
| a. Halswirbelsäule                    | 0   | 0    | 0  | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
| b. Brustwirbelsäule                   | 61  | 7,9  | 9  | 9,5  | 82  | 59,8 | 81  | 73,0 | 8   | 7,3  | 18  | 8,1  | 14  | 9,7  |
| c. Lendenwirbelsäule                  | 2   | 0,3  | 0  | 0    | 7   | 5,1  | 28  | 25,2 | 0   | 0    | 0   | 0    | 4   | 2,8  |
| d. Kreuzbein                          | 0   | 0    | 0  | 0    | 2   | 1,5  | 12  | 10,8 | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
| e. 1 - 2 O.Z. betr.                   | 59  | 7,6  | 8  | 8,4  | 44  | 32,1 | 32  | 28,3 | 8   | 7,3  | 18  | 8,1  | 18  | 12,5 |
| f. > 2 O.Z. betr.                     | 3   | 0,4  | 1  | 1,0  | 39  | 28,5 | 50  | 45,0 | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
| g. nicht O.B. - Schwanz               | 2   | 0,3  | 1  | 1,0  | 4   | 2,9  | 6   | 5,4  | 0   | 0    | 0   | 0    | 4   | 2,8  |
| 9. nicht O.B. - Becken                | 0   | 0    | 0  | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    |
| 10. nicht O.B. - Extrem.              | 10  | 1,3  | 0  | 0    | 6   | 4,4  | 4   | 3,6  | 2   | 1,8  | 24  | 10,9 | 15  | 10,4 |
| a. vordere Extr. betr.                | 2   | 0,3  | 0  | 0    | 1   | 0,7  | 0   | 0    | 2   | 1,8  | 20  | 9,0  | 13  | 9,0  |
| b. hintere Extr. betr.                | 8   | 1,0  | 0  | 0    | 5   | 3,6  | 3   | 2,7  | 1   | 0,9  | 6   | 2,7  | 3   | 2,1  |

Tabelle 23 B

Kombinationen

TERATOLOGISCHE GESAMTBEURTEILUNG,  
AUF TRETEN VON ABNORMITÄTEN IN DEN EINZELNEN KÖRPERREGIONEN

| Pharmakon/Dosis (mg/kg):    | G  |      | H  |      | I  |      | J   |      | K   |      | L   |      | M   |      |
|-----------------------------|----|------|----|------|----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|
|                             | n  | %    | n  | %    | n  | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    |
| 1. Anzahl der Feten         | 15 |      | 34 |      | 69 |      | 142 |      | 125 |      | 129 |      | 109 |      |
| 2. O.B.                     | 13 | 86,7 | 27 | 79,4 | 23 | 33,3 | 45  | 31,7 | 20  | 16,0 | 13  | 10,1 | 1   | 0,9  |
| 3. Feten m. Abnorm.         |    |      |    |      |    |      |     |      |     |      |     |      |     |      |
| (= nicht O.B.)              | 2  | 13,3 | 7  | 20,6 | 46 | 66,7 | 97  | 68,3 | 105 | 84,0 | 116 | 98,9 | 108 | 99,1 |
| 4. nicht O.B. - Schädel     | 0  | 0    | 1  | 2,9  | 6  | 8,7  | 47  | 33,1 | 93  | 74,4 | 104 | 80,6 | 91  | 83,5 |
| 5. nicht O.B. - Sternum     | 0  | 0    | 4  | 11,8 | 13 | 18,8 | 27  | 19,0 | 20  | 16,0 | 14  | 10,8 | 21  | 19,3 |
| 6. nicht O.B. - Rippen      | 0  | 0    | 2  | 5,9  | 1  | 1,4  | 18  | 12,7 | 12  | 9,6  | 3   | 2,3  | 4   | 3,7  |
| 7. nicht O.B. - Wirbelsäule | 2  | 13,3 | 0  | 0    | 38 | 55,1 | 42  | 29,6 | 50  | 40,0 | 90  | 69,8 | 108 | 99,1 |
| a. Halswirbelsäule          | 0  | 0    | 0  | 0    | 0  | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 0   | 0    | 1   | 0,9  |
| b. Brustwirbelsäule         | 1  | 6,7  | 0  | 0    | 37 | 53,6 | 42  | 29,6 | 50  | 40,0 | 87  | 67,4 | 105 | 96,3 |
| c. Lendenwirbelsäule        | 1  | 6,7  | 0  | 0    | 5  | 7,2  | 10  | 7,0  | 7   | 5,6  | 29  | 22,5 | 56  | 51,4 |
| d. Kreuzbein                | 0  | 0    | 0  | 0    | 6  | 8,7  | 3   | 2,1  | 3   | 2,4  | 21  | 16,3 | 47  | 43,1 |
| e. 1 - 2 O.Z. betr.         | 2  | 13,3 | 0  | 0    | 21 | 30,4 | 29  | 20,4 | 17  | 13,6 | 42  | 32,6 | 24  | 22,0 |
| f. > 2 O.Z. betr.           | 0  | 0    | 0  | 0    | 17 | 24,6 | 13  | 9,1  | 33  | 26,4 | 48  | 37,2 | 84  | 77,1 |
| 8. nicht O.B. - Schwanz     | 0  | 0    | 0  | 0    | 7  | 10,1 | 5   | 3,5  | 4   | 3,2  | 24  | 18,6 | 43  | 39,4 |
| 9. nicht O.B. - Becken      | 0  | 0    | 0  | 0    | 0  | 0    | 0   | 0    | 1   | 0,8  | 0   | 0    | 1   | 0,9  |
| 10. nicht O.B. - Extrem.    | 0  | 0    | 0  | 0    | 2  | 2,9  | 11  | 7,7  | 20  | 16,0 | 4   | 3,1  | 19  | 17,4 |
| a. vordere Extr. betr.      | 0  | 0    | 0  | 0    | 2  | 2,9  | 7   | 4,9  | 19  | 15,2 | 2   | 1,5  | 11  | 10,1 |
| b. hintere Extr. betr.      | 0  | 0    | 0  | 0    | 0  | 0    | 6   | 4,2  | 2   | 1,6  | 3   | 2,3  | 9   | 8,3  |

Tabelle 24 A  
Einzeldosen

## MALFORMATIONEN GESAMT (MINOR + MAJOR) IN DEN EINZELNEN KÖRPERREGIONEN

| Pharmakon/Dosis (mg/kg):  | Z Kontrolle |      | A HU 200 |      | B HU 300 |      | C HU 350 |      | D CU 0,25 |      | E CU 0,5 |      | F CU 1,0 |      |
|---------------------------|-------------|------|----------|------|----------|------|----------|------|-----------|------|----------|------|----------|------|
|                           | n           | %    | n        | %    | n        | %    | n        | %    | n         | %    | n        | %    | n        | %    |
| 1. Anzahl der Feten       | 777         |      | 95       |      | 137      |      | 111      |      | 109       |      | 221      |      | 144      |      |
| 2. O.B.                   | 534         | 68,7 | 66       | 69,5 | 40       | 29,2 | 18       | 16,2 | 57        | 52,3 | 95       | 43,0 | 47       | 32,6 |
| 3. nicht O.B.             | 243         | 31,3 | 29       | 30,5 | 97       | 70,8 | 93       | 83,8 | 52        | 47,7 | 126      | 57,0 | 97       | 67,4 |
| 4. Feten m. Malform. ges. | 65          | 8,4  | 6        | 6,3  | 50       | 36,5 | 70       | 63,1 | 24        | 22,0 | 59       | 26,7 | 49       | 34,0 |
| 5. Malform. - Schädel     | 50          | 6,4  | 3        | 3,2  | 15       | 10,9 | 37       | 33,3 | 21        | 19,3 | 43       | 19,5 | 36       | 25,0 |
| 6. Malform. - Sternum     | 3           | 0,4  | 0        | 0    | 5        | 3,6  | 6        | 5,4  | 0         | 0    | 3        | 1,4  | 3        | 2,1  |
| 7. Malform. - Wirbelsäule | 9           | 1,2  | 2        | 2,1  | 40       | 29,2 | 56       | 50,4 | 2         | 1,8  | 1        | 0,4  | 5        | 3,5  |
| 8. Malform. - Schwanz     | 2           | 0,3  | 1        | 1,0  | 4        | 2,9  | 6        | 5,4  | 0         | 0    | 0        | 0    | 4        | 2,8  |
| 9. Malform. - Becken      | 0           | 0    | 0        | 0    | 0        | 0    | 0        | 0    | 0         | 0    | 0        | 0    | 0        | 0    |
| 10. Malform. - Extrem.    | 2           | 0,3  | 0        | 0    | 0        | 0    | 3        | 2,7  | 1         | 0,9  | 17       | 7,7  | 10       | 6,9  |
| a. vordere Extr. betr.    | 1           | 0,1  | 0        | 0    | 0        | 0    | 0        | 0    | 1         | 0,9  | 17       | 7,7  | 9        | 6,2  |
| b. hintere Extr. betr.    | 1           | 0,1  | 0        | 0    | 0        | 0    | 3        | 2,7  | 0         | 0    | 0        | 0    | 2        | 1,4  |

Tabelle 24 B  
Kombinationen

MALFORMATIONEN GESAMT (MINOR + MAJOR) IN DEN EINZELNEN KÖRPERREGIONEN

| Pharmakon/Dosis (mg/kg):  | G  |      | H  |      | I  |      | J   |      | K   |      | L   |      | M   |      |
|---------------------------|----|------|----|------|----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|
|                           | n  | %    | n  | %    | n  | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    | n   | %    |
| 1. Anzahl der Feten       | 15 |      | 34 |      | 69 |      | 142 |      | 125 |      | 129 |      | 109 |      |
| 2. O. B.                  | 13 | 86,7 | 27 | 79,4 | 23 | 33,3 | 45  | 31,7 | 20  | 16,0 | 13  | 10,1 | 1   | 0,9  |
| 3. nicht O. B.            | 2  | 13,3 | 7  | 20,6 | 46 | 66,7 | 97  | 68,3 | 105 | 84,0 | 116 | 98,9 | 108 | 99,1 |
| 4. Feten m. Malform. ges. | 1  | 6,7  | 0  | 0    | 21 | 30,4 | 61  | 43,0 | 75  | 60,0 | 109 | 84,5 | 104 | 95,4 |
| 5. Malform. - Schädel     | 0  | 0    | 0  | 0    | 2  | 2,9  | 39  | 27,5 | 57  | 45,6 | 91  | 70,5 | 80  | 73,4 |
| 6. Malform. - Sternum     | 0  | 0    | 0  | 0    | 5  | 7,2  | 6   | 4,2  | 6   | 4,8  | 8   | 6,2  | 16  | 14,7 |
| 7. Malform. - Wirbelsäule | 1  | 6,7  | 0  | 0    | 11 | 15,9 | 24  | 16,9 | 29  | 23,2 | 74  | 57,4 | 100 | 91,7 |
| 8. Malform. - Schwanz     | 0  | 0    | 0  | 0    | 7  | 10,1 | 5   | 3,5  | 4   | 3,2  | 24  | 18,6 | 43  | 39,4 |
| 9. Malform. - Becken      | 0  | 0    | 0  | 0    | 0  | 0    | 0   | 0    | 1   | 0,8  | 0   | 0    | 1   | 0,9  |
| 10. Malform. - Extrem.    | 0  | 0    | 0  | 0    | 2  | 2,9  | 9   | 6,3  | 16  | 12,8 | 3   | 2,3  | 13  | 11,9 |
| a. vordere Extr. betr.    | 0  | 0    | 0  | 0    | 2  | 2,9  | 7   | 4,9  | 16  | 12,8 | 2   | 1,5  | 10  | 9,2  |
| b. hintere Extr. betr.    | 0  | 0    | 0  | 0    | 0  | 0    | 5   | 3,5  | 0   | 0    | 2   | 1,5  | 3   | 2,7  |

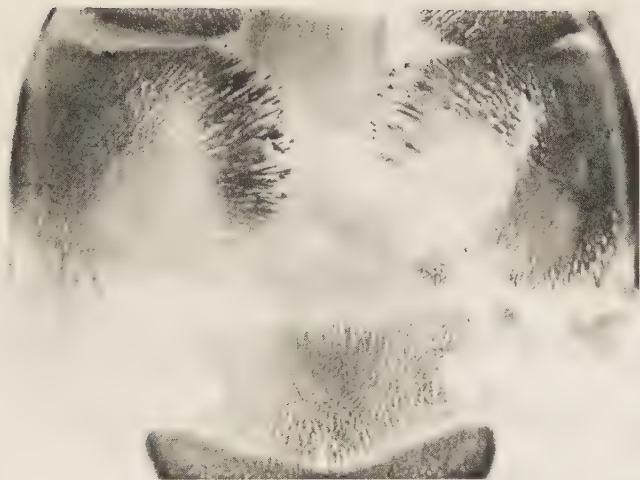


Abb. 1: Schädeldach eines Rattenfetus Tag 21 der Schwangerschaft, Stamm Bor: WISW (SPF TNO). 300 mg/kg HU + 1,0 mg/kg CU appliziert am Tag 11 der Schwangerschaft. Mangelhafte Verknöcherung des Schädeldaches und vergrößerte Fontanelle (Retardierungsmerkmale). Vergrößerung 13,65-fach, nach Verkleinerung im Druckverfahren ca. 6-fach.



Abb. 2: Schädeldach eines Rattenfetus Tag 21 der Schwangerschaft, Stamm Bor: WISW (SPF TNO). Kontrollgruppe. Normal, Tag 21 entsprechende Verknöcherung des Schädeldaches. Vergrößerung 13,65-fach, nach Verkleinerung im Druckverfahren ca. 6-fach.



Abb. 3: Knöcherner Hemithorax eines Rattenfetus Tag 21 der Schwangerschaft, Stamm Bor: WISW (SPF TNO). 300 mg/kg HU + 1,0 mg/kg CU appliziert am Tag 11 der Schwangerschaft. Wellige Rippen (reversible Mißbildung). Vergrößerung 13,65-fach, nach Verkleinerung im Druckverfahren ca. 6,5-fach.

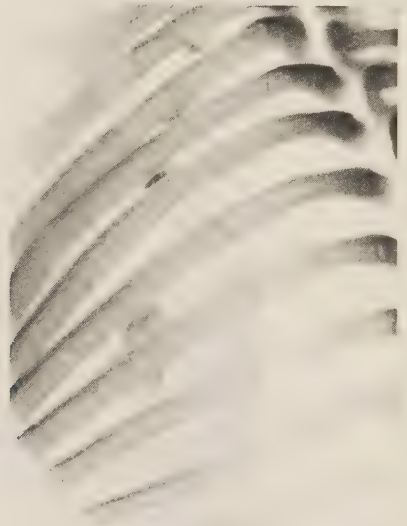


Abb. 4: Knöcherner Hemithorax eines Rattenfetus Tag 21 der Schwangerschaft, Stamm Bor: WISW (SPF TNO). Kontrollgruppe, normale Form und Struktur der Rippen.



Abb. 5: Schädelknochen, Seitenansicht, eines Rattenfetus Tag 21 der Schwangerschaft, Stamm Bor: WISW (SPF TNO). 350 mg/kg HU + 1,0 mg/kg CU appliziert am Tag 11 der Schwangerschaft. Os Zygomaticum verwachsen (geringgradige Mißbildung). Vergrößerung 13,65-fach, nach Verkleinerung im Druckverfahren ca. 6,8-fach.

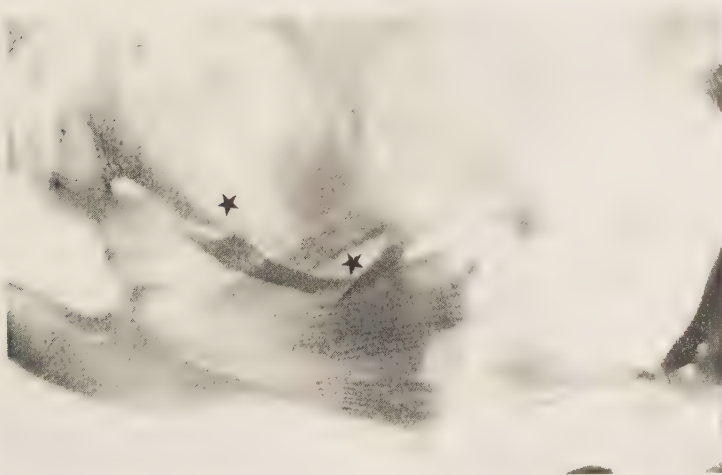


Abb. 6: Schädelknochen, Seitenansicht eines Rattenfetus Tag 21 der Schwangerschaft, Stamm Bor: WISW (SPF TNO). Kontrollgruppe. Regelrechte Entwicklung des Os Zygomaticums. Vergrößerung 13,65-fach, nach Verkleinerung im Druckverfahren ca. 3,8-fach.

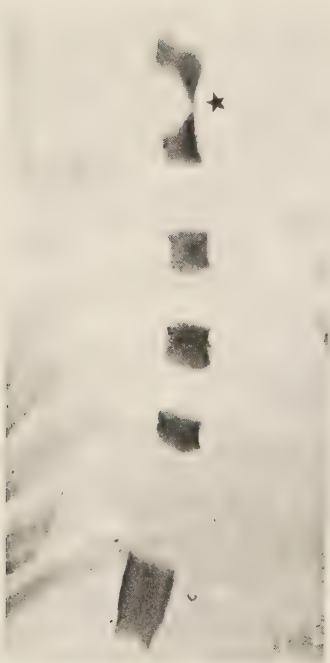


Abb. 7: Sternum eines Rat-  
tenfetus Tag 21 der Schwan-  
gerschaft, Stamm Bor: WISW  
(SPF TNO). 300 mg/kg HU +  
0,5 mg/kg CU appliziert am  
Tag 11 der Schwangerschaft.  
Zwei Ossifikationszentren ver-  
wachsen (geringgradige Miß-  
bildung). Vergrößerung 13,65-  
fach, nach Verkleinerung im  
Druckverfahren ca. 3,8-fach.

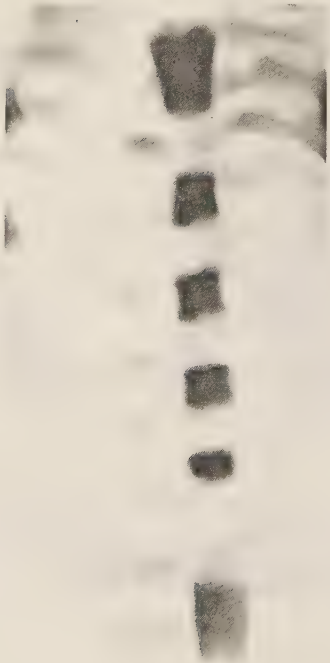


Abb. 8: Sternum eines Rat-  
tenfetus Tag 21 der Schwan-  
gerschaft, Stamm Bor: WISW  
(SPF TNO). Kontrollgruppe.  
Normal angelegte Ossifikations-  
zentren des Brustbeins. Ver-  
größerung 13,65-fach, nach  
Verkleinerung im Druckver-  
fahren ca. 6,8-fach.



Abb. 9: Sternum eines Rat-  
tenfetus Tag 21 der Schwan-  
gerschaft, Stamm Bor: WISW  
(SPF TNO). 300 mg/kg HU +  
1,0 mg/kg CU appliziert am  
Tag 11 der Schwangerschaft.  
Sternale Ossifikationszentren  
gespalten (geringgradige Miß-  
bildung). Vergrößerung 13,65-  
fach, nach Verkleinerung im  
Druckverfahren ca. 6,8-fach.



Abb. 10: Abb. 10 zeigt  
das in Abb. 9 dargestellt  
Brustbein, herausgelöst.



Abb. 11: Sternum eines Rat-  
tenfetus Tag 21 der Schwan-  
gerschaft, Stamm Bor: WISW  
(SPF TNO). Kontrollgruppe.  
Normal angelegtes und ent-  
wickeltes Sternum. Vergröße-  
rung 13,65-fach, nach Ver-  
kleinerung im Druckverfahren  
ca. 6,8-fach.

Abb. 12: Sternum eines Rat-  
tenfetus Tag 21 der Schwan-  
gerschaft, Stamm Bor: WISW  
(SPF TNO). 300 mg/kg HU +  
0,25 mg/kg CU appliziert am  
Tag 11 der Schwangerschaft.  
Sternum gespalten, Fehlen von  
sternalen Ossifikationszentren,  
Sternum insgesamt irregulär  
verknöchert (geringgradige  
Mißbildung). Vergrößerung  
16,8-fach, nach Verkleinerung  
im Druckverfahren ca. 8,4-fach.



Abb. 13: Ossifikationszentren der Wirbelsäule eines Rattenfetus Tag 21 der Schwangerschaft, Stamm Bor: WISW (SPF TNO). 300 mg/kg HU + 0,25 mg/kg CU appliziert am Tag 11 der Schwangerschaft. In Brustwirbelsäule und Lendenwirbelsäule trommelschegelförmige ventrale Ossifikationszentren asymmetrisch (geringgradige Mißbildung) und symmetrisch (Retardierung); laterale Ossifikationszentren verwachsen (schwere Mißbildung). Vergrößerung 21,45-fach, nach Verkleinerung im Druckverfahren ca. 10,7-fach.

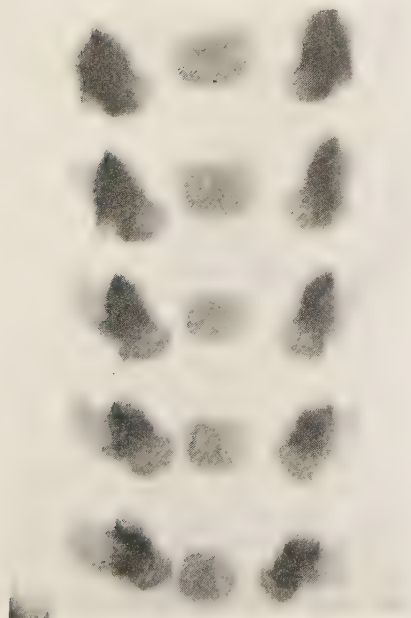


Abb. 14: Ossifikationszentren der Lendenwirbelsäule eines Rattenfetus Tag 21 der Schwangerschaft, Stamm Bor: WISW (SPF TNO). Kontrollgruppe. Regelrecht angelegte und entwickelte Ossifikationszentren der Wirbelsäule. Vergrößerung 21,45-fach, nach Verkleinerung im Druckverfahren ca. 10,7-fach.



Abb. 15: Obere Extremität eines Rattenfetus Tag 21 der Schwangerschaft, Stamm Bor: WISW (SPF TNO). 300 mg/kg HU + 0,5 mg/kg CU appliziert an Tag 11 der Schwangerschaft. Scapula porös (Variation) und verbogen (malformation major), Humerus porös (Variation). Vergrößerung 8,6-fach, nach Verkleinerung im Druckverfahren ca. 4,3-fach.

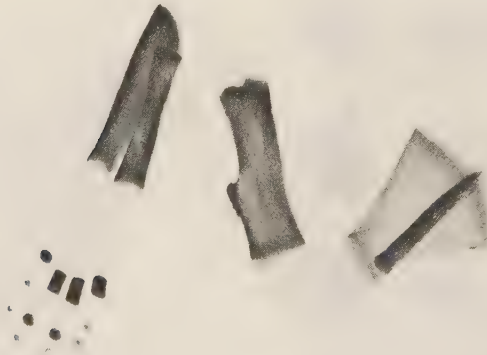


Abb. 16: Obere Extremität eines Rattenfetus Tag 21 der Schwangerschaft, Stamm Bor: WISW (SPF TNO). Kontrollgruppe. Obere Extremität ohne pathologischen Befund am Skelettsystem. Vergrößerung 8,6-fach, nach Verkleinerung im Druckverfahren ca. 4,3-fach.



Abb. 17: Obere Extremität zweier Rattenfeten Tag 21 der Schwangerschaft, Stamm Bor: WISW (SPF TNO). Oben: 300 mg/kg HU + 0,5 mg/kg CU appliziert am Tag 11 der Schwangerschaft. Radius und Ulna verbogen (malformation major). Unten: Kontrollfetus ohne pathologische Befund am Skelettsystem der oberen Extremität. Vergrößerung 8,6-fach, nach Verkleinerung im Druckverfahren ca. 4,3-fach.

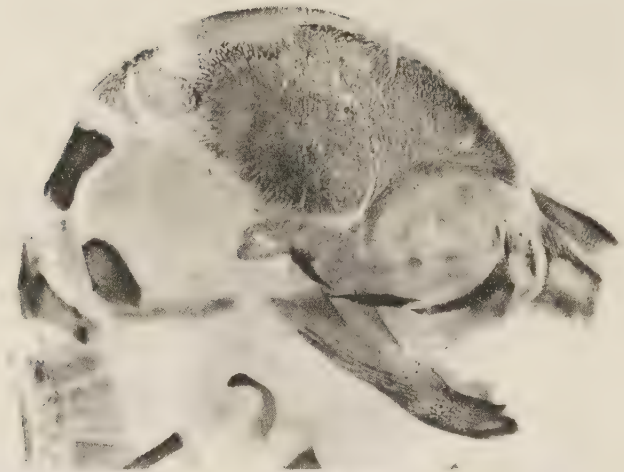


Abb. 18: Hirnschädel- und Gesichtsschädelknochen eines Rattenfetus Tag 21 der Schwangerschaft, Stamm Bor: WISW (SPF TNO), Seitenansicht. 350 mg/kg HU + 0,5 mg/kg CU appliziert am Tag 11 der Schwangerschaft. Schädeldach mangelhaft verknöchert (Retardierungsmerkmale), Schädelnähte irregulär verwachsen und fehlendes Os Tympanicum (malformation major). Vergrößerung 8,6-fach, nach Verkleinerung im Druckverfahren ca. 4,3-fach.



Abb. 19: Hirnschädel- und Gesichtsschädelknochen eines Rattenfetus Tag 21 der Schwangerschaft, Stamm Bor: WISW (SPF TNO), Seitenansicht. Kontrollgruppe. Schädelknochen ohne pathologischen Befund. Vergrößerung 8,6-fach, nach Verkleinerung im Druckverfahren ca. 4,3-fach.

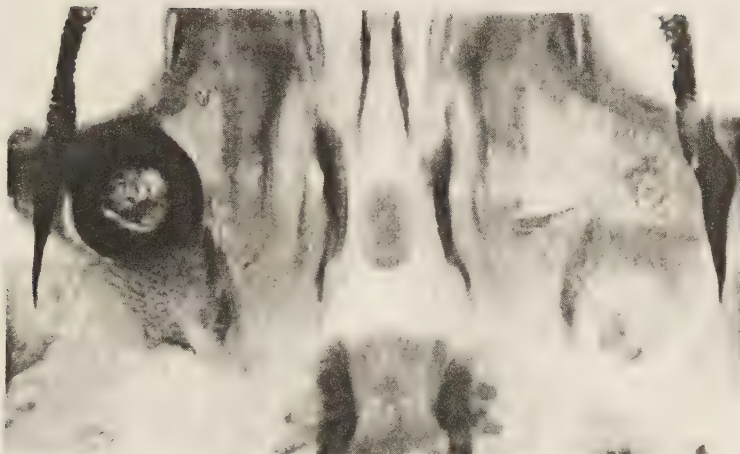


Abb. 20: Knöcherner Gaumen und Schädelbasis eines Rattenfetus Tag 21 der Schwangerschaft, Stamm Bor: WISW (SPF TNO). 300 mg/kg HU + 1,0 mg/kg CU appliziert am Tag 11 der Schwangerschaft. Gaumenspalte (malformation major). Vergrößerung 16,8-fach, nach Verkleinerung im Druckverfahren ca. 8,4-fach.



Abb. 21: Knöcherner Gaumen und Schädelbasis eines Rattenfetus Tag 21 der Schwangerschaft, Stamm Bor: WISW (SPF TNO). Kontrollgruppe. Die Knochen des harten Gaumens liegen aneinander. Vergrößerung 16,8-fach, nach Verkleinerung im Druckverfahren ca. 8,4-fach.

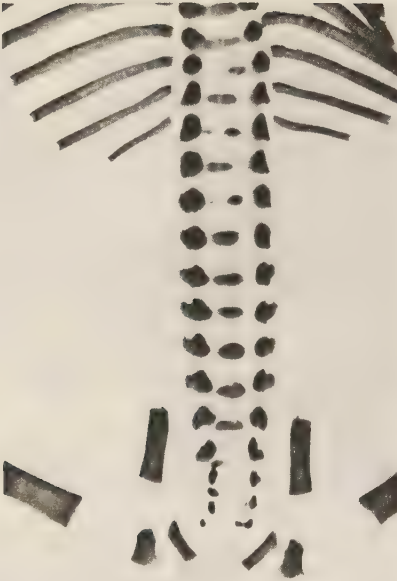


Abb. 22: Wirbelsäule eines Rattenfetuses Tag 21 der Schwangerschaft, Stamm Bor: WISW (SPF TNO). 300 mg/kg HU + 1,0 mg/kg CU appliziert am Tag 11 der Schwangerschaft. Zwei ventrale Ossifikationszentren asymmetrisch in Brustwirbelsäule und Lendenwirbelsäule (malformation minor). In der Brustwirbelsäule ein irregulär angelegtes ventrales Ossifikationszentrum (malformation major). Im Kreuzbein fehlen ventrale Ossifikationszentren (malformation minor), wenn vorhanden sind sie irregulär angelegt (malformation major) und mit den lateralen Ossifikationszentren verwachsen (malformation major), der Schwanz fehlt. Vergrößerung 6,6-fach, nach Verkleinerung im Druckverfahren ca. 3,3-fach.



Abb. 23: Wirbelsäule eines Rattenfetuses Tag 21 der Schwangerschaft, Stamm Bor: WISW (SPF TNO). Fetus aus der Kontrollgruppe ohne pathologischen Befund am Skelettsystem der Wirbelsäule. Vergrößerung 6,6-fach, nach Verkleinerung im Druckverfahren ca. 3,3-fach.



Abb. 24: Wirbelsäule eines Rattenfetus Tag 21 der Schwangerschaft, Stamm Bor: WISW (SPF TNO). 350 mg/kg HU + 0,5 mg/kg CU appliziert am Tag 11 der Schwangerschaft. In der Lendenwirbelsäule sichtbar: ventrales Ossifikationszentrum trommelschlegelförmig, asymmetrisch (malformation minor), laterale Ossifikationszentrum verschmolzen (malformation major), Fehlen von ventralen Ossifikationszentren (malformation minor). Das Kreuzbein ist insgesamt regellos angelegt (malformation major), Ossifikationszentren fehlen (malformation minor), der Schwanz fehlt (malformation major). Vergrößerung 8,6-fach, nach Verkleinerung im Druckverfahren ca. 4,3-fach.

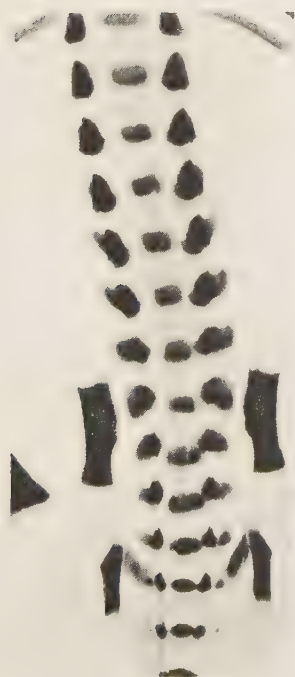


Abb. 25: Wirbelsäule eines Rattenfetus Tag 21 der Schwangerschaft, Stamm Bor: WISW (SPF TNO). Fetus aus der Kontrollgruppe ohne pathologischen Befund am Skelettsystem der Wirbelsäule. Vergrößerung 8,6-fach, nach Verkleinerung im Druckverfahren ca. 4,3-fach.



### Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Professor Dr. Diether Neubert und allen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Neubert für die vielfältige Unterstützung bei der Erstellung dieser Arbeit.



## Lebenslauf

- Geboren: am 24. 10. 1952 in Hannover
- Eltern: Karl-Heinz Wenk, Apotheker und  
Anneliese Wenk geb. Eickenrodt,  
Volksschullehrerin
- Schulbildung:
- |             |                                                                                                                                          |
|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1959 - 1963 | Volksschule in Opladen                                                                                                                   |
| 1963 - 1966 | städtisches Ina-Seidel-Gymnasium<br>in Opladen                                                                                           |
| 1966 - 1971 | Frau-Rat-Goethe-Gymnasium in Duis-<br>burg mit einem Jahr Unterbrechung<br>(1969/70) während eines Austausch-<br>aufenthaltes in den USA |
- Abitur: im Mai 1971
- Studium:
- 1971/72 Studium der Psychologie an der Univer-  
sité René Descartes in Paris, Fortführung  
dieses Studiums ab April 1973 an der FU  
Berlin, Fachbereich 11.
- Ab Wintersemester 1972/73 Studium der Humanmedizin  
nach der neuen Approbationsordnung an  
der FU Berlin.
- Ärztliche Prüfung abgelegt am 31. 5. 1979.
- Approbation als Arzt: am 21. 9. 1979
- Weitere Ausbildung: Ausbildung in Atemtherapie, einer psychosomati-  
schen Ganzheitstherapie, am Institut Prof. I. Mid-  
dendorf in Berlin.
- Arbeitssituation:
- Januar 1980 bis Mai 1980 Mitarbeit im Forschungspro-  
jekt "Gesundheit älterer Menschen" des Institutes für  
Soziale Medizin der FU Berlin;
- Juli 1980 bis Dezember 1981 Tätigkeit als wissen-  
schaftliche Mitarbeiterin am Institut für Toxikologie  
und Embryonalpharmakologie der FU Berlin;
- Lehrtätigkeit in Anatomie, Physiologie und Pathologie  
am Institut für Atemtherapie seit 1978;
- Praxishospitation und -vertretungen.

